

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

DIPLOMOVÁ PRÁCE



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

DETEKCE A LOKALIZACE MIKROBIÁLNÍCH KOLONIÍ POMOCÍ ALGORITMŮ HLUBOKÉHO UČENÍ

DETECTION AND LOCALIZATION OF MICROBIAL COLONIES BY MEANS OF DEEP LEARNING
ALGORITHMS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Michal Čičatka

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Martin Mézl, Ph.D.

BRNO 2021

Diplomová práce

magisterský navazující studijní program **Biomedicínské inženýrství a bioinformatika**

Ústav biomedicínského inženýrství

Student: Bc. Michal Čičatka

ID: 195723

Ročník: 2

Akademický rok: 2020/21

NÁZEV TÉMATU:

Detekce a lokalizace mikrobiálních kolonií pomocí algoritmů hlubokého učení

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Provedte literární rešerši algoritmů používaných v oblasti hlubokého strojového učení, se zaměřením na problematiku segmentace, dostupné frameworky a knihovny a jejich stručné srovnání. 2) Provedte literární rešerši problematiky detekce a lokalizace mikrobiálních kolonií na Petriho misce se zaměřením na tyto parametry: velikost kolonie, její kruhovitost a vzdálenost od ostatních kolonií. 3) Vytvořte a popište dostatečně rozsáhlou sadu označených dat a ve vhodném poměru je rozdělte na data pro trénování, testování a validaci algoritmů. 4) Na základě poznatků z rešerše navrhnete a implementujete minimálně tři architektury sítí. 5) Vytvořte metodiku hodnocení úspěšnosti (přesnosti) algoritmů a implementujte automatizovaný proces přípravy dat, trénování a evaluaci modelu. Následně proces aplikujte na všechny navržené architektury a porovnejte je vzhledem k paměťové a výpočetní náročnosti. 6) Provedte diskusi získaných výsledků a zhodnoťte účinnost a využitelnost řešení.

Práce je řešena ve spolupráci s firmou Bruker s.r.o.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] RONNEBERGER, Olaf, Philipp FISCHER a Thomas BROX. U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation., 234. DOI: 10.1007/978-3-319-24574-4_28.

[2] HE, Kaiming, Georgia GKIOXARI, Piotr DOLLAR a Ross GIRSHICK. Mask R-CNN. 2017 IEEE ICCV. IEEE, 2017, 2980-2988. DOI: 10.1109/ICCV.2017.322. ISBN 978-1-5386-1032-9.

Termín zadání: 8.2.2021

Termín odevzdání: 21.5.2021

Vedoucí práce: Ing. Martin Mézl, Ph.D.

Konzultant: Ing. et Ing. Jan Karásek, Ph.D.

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.
předseda rady studijního programu

UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

ABSTRAKT

Díky masivnímu rozšíření hmotnostní spektrometrie a neustálému zdražování lidské práce se v současné době nabízí otázka optimalizace přípravy mikrobiálních vzorků. Tato diplomová práce se věnuje návrhu a implementaci algoritmu strojového učení pro segmentaci obrazů mikrobiálních kolonií kultivovaných na Petriho miskách. Algoritmus bude použit v ovládacím software přístroje MBT Pathfinder společnosti Bruker s. r. o., jehož úkolem je automatizace procesu roztěru mikrobiálních vzorků na MALDI destičky. V rámci práce bylo implementováno několik modelů segmentačních neuronových sítí na bázi architektur UNet, UNet++ a ENet. Na základě množství experimentů zkoumajících různé konfigurace sítí a předzpracování trénovacího datasetu byl pro použití v produkčním prostředí vybrán model ENet s čtyřnásobným množstvím filtrů a přidaným konvolučním blokem enkodéru trénovaný na datasetu obrazů misek s aplikovanou kruhovou maskou.

KLÍČOVÁ SLOVA

hmotnostní spektrometrie, MALDI, mikrobiální vzorky, Petriho miska, segmentace obrazu, strojové učení, UNet, UNet++, ENet

ABSTRACT

Due to massive expansion of the mass spectrometry and constant price growth of the human labour the optimisation of the microbial samples preparation comes into question. This master thesis deals with design and implementation of a machine learning algorithm for segmentation of images of microbial colonies cultivated on Petri dishes. This algorithm is going to be a part of a controlling software of a MBT Pathfinder device developed by the company Bruker s. r. o. that automates the process of smearing microbial colonies onto a MALDI target plates. In terms of this thesis a several models of neural networks based on the UNet, UNet++ and ENet architecture were implemented. Based on a number of experiments investigating various configurations of the networks and pre-processing of the training dataset there was chosen an ENet model with quadruplet filter count and additional convolutional block of the encoder trained on a dataset pre-processed with round mask.

KEYWORDS

mass spectrometry, MALDI, microbial samples, Petri dish, image segmentation, machine learning, UNet, UNet++, ENet

ČIČATKA, Michal. *Detekce a lokalizace mikrobiálních kolonií pomocí algoritmů hlubokého učení*. Brno, 2020, 70 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství. Vedoucí práce: Ing. Martin Mézl, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svou diplomovou práci na téma „Detekce a lokalizace mikrobiálních kolonií pomocí algoritmů hlubokého učení“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této diplomové práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

Brno

.....

podpis autora

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval vedoucímu diplomové práce panu Ing. Martinu Mězlovi, Ph.D. za vedení práce po formální stránce a především ochotu a cenné rady. Díky patří rovněž Ing. Václavu Uhrovi, Ph.D. a Ing. et. Ing. Janu Karáskovi, Ph.D. za odborné poznatky, četné připomínky a podnětné návrhy.

Obsah

Úvod	12
1 Biologické kolonie a jejich analýza	13
1.1 Kultivace mikrobiálních kolonií	13
1.2 Kultivace kolonií na agaru	13
1.3 Analýza mikrobiálních kolonií	13
1.3.1 Smyslová analýza mikrobiálních kolonií	14
1.3.2 Biochemické testy mikrobiálních kolonií	15
1.3.3 Přístrojová analýza mikrobiálních kolonií	15
2 Segmentace obrazu	17
2.1 Tradiční segmentační techniky	17
2.1.1 Tradiční segmentační techniky a mikrobiální kolonie	18
2.2 Techniky užívající strojové učení	19
2.2.1 Hluboké učení	19
2.2.2 Perceptron	19
2.2.3 Umělé neuronové sítě	20
2.2.4 Konvoluční neuronové sítě	20
2.2.5 Vrstvy sítí	20
2.2.6 Architektury sítí	22
2.2.7 UNet++	25
2.2.8 ENet	27
3 MBT Pathfinder a lokalizace mikrobiálních kolonií	29
3.1 Hmotnostní spektrometrie biologických vzorků	29
3.2 MBT Pathfinder	29
3.3 Současný algoritmus pro selekci kolonií	31
3.4 Nový algoritmus pro selekci kolonií	32
3.5 Výchozí dataset	34
4 Návrh a implementace architektury sítě UNet	37
4.1 Implementace modelu a jeho trénování	37
4.1.1 Vliv počtu vrstev a konvolučních jader	38
4.1.2 Modely s reziduálními bloky	40
5 Návrh a implementace architektury sítě UNet++	44
5.1 Implementace modelu a jeho trénování	44
5.2 Vliv počtu filtrů	45

5.3	Zvýšení počtu vrstev	46
6	Návrh a implementace architektury sítě ENet	50
6.1	Implementace modelu ENet a jeho trénování	50
6.2	Zvýšení počtu filtrů	50
6.3	Zvýšení počtu vrstev	52
7	Předzpracování datasetu	55
7.1	Kruhová maska	55
7.2	Ekvalizace histogramu	55
8	Volba modelu pro aplikační použití	59
	Závěr	61
	Literatura	62
	Seznam symbolů, veličin a zkratk	66
	Seznam příloh	67
A	Diagramy modelů	68

Seznam obrázků

1.1	Miska s mikrobiálními koloniemi	14
1.2	Vlevo tvary kolonií - okrouhlý (A), laločnatý (B), obláčkovitý (C); vpravo hrany kolonií - rovné (A), vykousaný (B)	15
2.1	Schéma perceptronu	20
2.2	Strukutra reziduálního bloku [13]	21
2.3	Diagram sítě UNet [21]	23
2.4	Diagram sítě SegNet [4]	24
2.5	Diagram sítě PSPNet [26]	24
2.6	Diagram sítě DeepLab [5]	25
2.7	Diagram sítě R-CNN [9]	26
2.8	Architektura UNet++ a rozdělení na sítě na funkční bloky [27]	26
2.9	Vlevo inicializační blok sítě ENet; vpravo bottle-neckový blok [19] . .	27
2.10	Rozmístění vrstev v síti ENet [19]	28
3.1	Destička pro analýzu hmotností spektrometrií s mikrobiálními vzorky a nanosenou maticí	30
3.2	Původní algoritmus pro selekci mikrobiálních kolonií [1]	31
3.3	Nedokonalosti odezvy původního segmentačního algoritmu - vlevo fa- lešně pozitivní segmentace popisů misky (odezva na obr. 3.5a); vpravo problém segmentace souvislých oblastí (odezva na obr. 3.6a)	32
3.4	První příklad obrazu z datasetu a jeho masky (vlevo originální sní- mek; vpravo maska)	34
3.5	Druhý příklad obrazu z datasetu a jeho masky (vlevo originální sní- mek; vpravo maska)	35
3.6	Třetí příklad obrazu z datasetu a jeho masky (vlevo originální snímek; vpravo maska)	35
3.7	Čtvrtý příklad obrazu z datasetu a jeho masky (vlevo originální sní- mek; vpravo maska)	36
4.1	Příklad průběhu kritériální funkce (UNet o 5 vrstvách s 64 kanály v první konvoluční vrstvě)	37
4.2	Závislost Dice koeficientu na počtu kanálů a vrstev	39
4.3	Příklady nedokonalostí segmentace (odezva na obr. 3.7a) - vlevo mo- del s 5 vrstvami a 32 kanály v první konvoluční vrstvě; vpravo model s 5 vrstvami a 64 kanály v první konvoluční vrstvě	40
4.4	Odezva modelů na obr. 3.6a - vlevo model s 5 vrstvami a 32 kanály v první konvoluční vrstvě; vpravo model s 5 vrstvami a 64 kanály v první konvoluční vrstvě	41

4.5	Odezva modelů na obr. 3.4a - vlevo model s 5 vrstvami a 32 kanály v první konvoluční vrstvě; vpravo model s 5 vrstvami a 64 kanály v první konvoluční vrstvě	41
4.6	Odezva reziduálních modelů na obr. 3.6a - vlevo reziduální model s 5 vrstvami a 32 kanály; vpravo reziduální model s 5 vrstvami a 64 kanály	43
4.7	Odezva reziduálních modelů na obr. 3.7a - vlevo reziduální model s 5 vrstvami a 32 kanály; vpravo reziduální model s 5 vrstvami a 64 kanály	43
5.1	Odezva modelu bez hluboké supervize - vlevo odezva na obr. 3.7a; vpravo odezva na obr. 3.4a	46
5.2	Příklad průběhu kritériální funkce (UNet o 5 vrstvách s 64 kanály v první vrstvě)	47
5.3	Odezva modelu na obr. 3.7a - vlevo model s dvojnásobným počtem filtrů; vpravo model s čtyřnásobným počtem filtrů	47
5.4	Odezva modelů s přidanými vrstvami na obr. 3.6a - vlevo model s jednou přidanou vrstvou; vpravo model se dvěma přidanými vrstvami	49
6.1	Průběhy kritériálních funkcí modelů ENet s různými učitými kroky - vlevo $1 \cdot 10^{-5}$; vpravo $1 \cdot 10^{-3}$	50
6.2	Odezva standardního modelu - vlevo odezva modelu na obr. 3.4a; vpravo odezva modelu na obr. 3.7a	51
6.3	Odezva modelu s dvojnásobným počtem filtrů - vlevo odezva modelu na obr. 3.4a; vpravo odezva modelu na obr. 3.7a	51
6.4	Odezva modelu s přidanou vrstvou a čtyřnásobným počtem filtrů - vlevo odezva modelu na obr. 3.4a; vpravo odezva modelu na obr. 3.5a	54
6.5	Odezva modelu s přidanou vrstvou a čtyřnásobným počtem filtrů - vlevo odezva modelu na obr. 3.6a; vpravo odezva modelu na obr. 3.7a	54
7.1	Snímek překrytý kruhovou maskou	56
7.2	Příklad ekvalizace - vlevo obraz bez ekvalizovaného histogramu; vpravo obraz s ekvalizovaným histogramem	56
7.3	Artefakt zrna na obrazech s ekvalizovaným histogramem - vlevo přiblížený artefakt zrna na obrazech s ekvalizovaným histogramem; vpravo výsledek modelu ENet trénovaném na datasetu s ekvalizovanými histogramy	58
7.4	Porovnání výsledků s ekvalizovanými histogramy - vlevo výsledek modelu ENet trénovaném na klasickém datasetu; vpravo výsledek modelu ENet trénovaném na datasetu s ekvalizovanými histogramy	58
A.1	UNet++ model s hlubokou supervizí a konkatencí (červeně značeny výstupy nezávislých bloků, zeleně celkový výstup sítě)	68

A.2	UNet++ model s hlubokou supervizí bez konkatenace (červeně zna- čeny výstupy nezávislých bloků)	69
A.3	UNet++ model bez hluboké supervize (červeně značen výstup nej- hlubšího nezávislého bloku)	70

Seznam tabulek

3.1	Výsledky původního segmentačního algoritmu při vstupu dat z testovací množiny	33
4.1	Srovnání vybraných natrénovaných modelů UNet	38
4.2	Srovnání vybraných natrénovaných modelů UNet	42
5.1	Srovnání vybraných natrénovaných konfigurací architektury UNet++	45
5.2	Srovnání natrénovaných modelů UNet++ bez hluboké supervize dle násobku filtrů	48
6.1	Srovnání natrénovaných modelů architektury ENet	53
7.1	Srovnání vybraných natrénovaných modelů s datasetem s kruhovými maskami	57
8.1	Výsledky modelu vybraného pro produkční prostředí	60

Úvod

Kultivace mikrobiálních kolonií a její analýza pomocí hmotností spektrometrie je silnou konkurencí tradičních biochemických metod jako např. *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* (ELISA). MBT Pathfinder spadá do portfolia produktů z oblasti hmotnostní spektrometrie společnosti Bruker. Jedná se o automatizovaného robota, který připravuje mikrobiální vzorky kultivovaných na Petriho miskách na analýzu hmotností spektrometrií. Jedním z důležitých procesů běhu tohoto přístroje je selekce bakteriálních kolonií z Petriho misky. Cílem této diplomové práce je vývoj segmentačního algoritmu, jenž následně bude jádrem softwaru pro automatizaci selekce mikrobiálních kolonií.

V úvodu práce je čtenář seznámen s problematikou mikrobiálních kolonií, jejich kultivací a analýzou. Dále jsou představeny tradiční segmentační techniky a následně i základy strojového učení v kontextu segmentace. Podrobně jsou popsány i klíčové oblasti přístroje MBT Pathfinder pro lepší pochopení praktické části a aplikačního přesahu práce.

Praktická část se věnuje implementaci, testování a ladění segmentačních modelů hlubokých neuronových sítí založených na architekturách UNet, UNet++ a ENet. Krátce se práce věnuje i možnosti předzpracování trénovacího datasetu. V závěru práce je zvolena jedna z konfigurací architektury ENet pro integraci do řídicí aplikace přístroje MBT Pathfinder.

1 Biologické kolonie a jejich analýza

Studium mikrobiálních kolonií nachází své uplatnění nejen v biologických výzkumech, ale např. i ve farmacii, potravinářském průmyslu a medicíně. Mezi nejčastěji zkoumané vzorky patří bakterie a houby (z hub jsou velmi rozšířené kvasinky).

1.1 Kultivace mikrobiálních kolonií

Biologické kolonie se připravují přenosem malého množství mikrobů na živné médium, které obsahuje živiny umožňující růst přenesených organismů.

Živná média se dělí na tekutá a pevná. Tekutá živná média se skládají především z vody a směsi živin v ní rozpuštěné. Nejčastějším pevným živným médiem je agar, který je uchováván v Petriho miskách. Skládá se ze dvou základních složek: agarózy a agaropektinu. Typů agarů je velké množství a liší se aditivními složkami, jež určují jejich vhodnost pro kultivaci různých mikrobů.

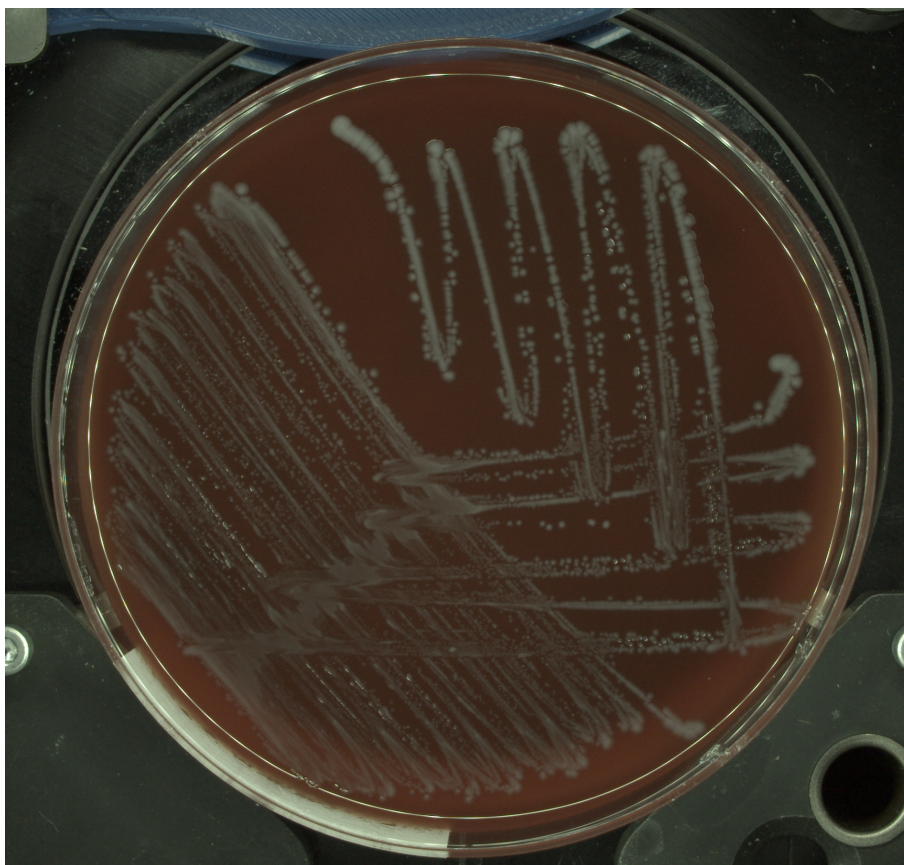
1.2 Kultivace kolonií na agaru

Kultivace mikrobiálních vzorků se provádí ve dvou krocích. Prvním krokem je vytvoření tzv. *inocula*. Inoculum se vytváří rovnoběžnými nebo krouživými pohyby na agaru diagnostickou smyčkou s kapkou substrátu. Ve druhém kroku se z inocula průběžně dezinfikovanou smyčkou *rozočkuje* agar do dlouhých čar. Ve chvíli, kdy je mikrobiální substrát dostatečně naředěn, se na konci čar začnou objevovat pouze jednotlivé bakterie, ze kterých následně porostou kolonie. [22]

Takto připravená miska se dále inkubuje při různých teplotách (nejčastěji kolem 37 °C, což odpovídá teplotě lidského těla). Inkubace usnadní a urychlí růst mikrobiálních kolonií. Inkubace běžně trvá 24-48 hodin. Příklad připravené Petriho misky s narostlými mikrobiálními koloniemi je na obr. 1.1.

1.3 Analýza mikrobiálních kolonií

Po kultivaci mikrobiálních kolonií následuje jejich analýza. Stále používané jsou přístupy manuální, ve kterých zkušený laboratorní pracovník analyzuje mikroby pomocí svých smyslů a biochemických testů. Stále větší pozornost však získávají také automatizované přístrojové analýzy.

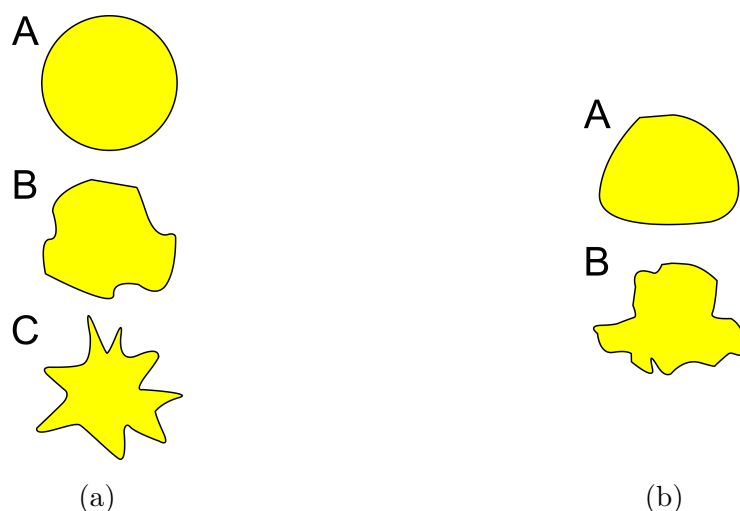


Obr. 1.1: Miska s mikrobiálními koloniemi

1.3.1 Smyslová analýza mikrobiálních kolonií

Tradiční analýza mikrobiálních kolonií se skládá především ze zkoumání parametrů jako např. velikost, tvar, barva, zápach a konzistence kolonií.

Velikosti se rozdělují jako drobné (méně než 1 mm), malé (cca 1 mm), střední (2-3 mm) a velké (5 mm a více). Tvary (obrázek 1.2a) mohou být např. okrouhlé, laločnaté nebo obláčkovité. Hodnotí se rovněž struktura okrajů kolonie (rovné, vroubkované, vykousané; příklady jsou na obrázku 1.2b). Povrchy kolonií mohou být hladké, lesklé, matné, drsné, vrstevnaté apod. Dalším důležitým parametrem je barva a její struktura (matná, průsvitná, irizující apod). Mikroby mohou také produkovat pigmenty různých barev. Konzistence kolonií potom mohou být mazlavé, drsné, hladké a nebo může být kolonie vrostlá do agaru. Konzistence odpovídá růstové fázi. Zápachy kolonie se rozdělují na příjemné, fekální, amoniakové, plísňové, kyselé nebo indiferentní (bez zápachu). [22]



Obr. 1.2: Vlevo tvary kolonií - okrouhlý (A), laločnatý (B), obláčkovitý (C); vpravo hrany kolonií - rovné (A), vykousaný (B)

1.3.2 Biochemické testy mikrobiálních kolonií

Biochemickými testy se mohou hodnotit nejrůznější parametry mikrobiálních kolonií, nejčastěji z důvodů typizace bakterií.

Analyzační reagentie mohou být součástí již živných půd (tzv. selektivních médií). Ty mohou např. stimulovat růst určitých bakterií, zatímco jiných inhibovat. Příkladem může být tzv. MacConkeyho agar, který růst gram-pozitivních bakterií inhibuje a gram-negativních stimuluje. Stejně tak mohou média obsahovat reagentie, dle kterých mění kolonie barvu v závislosti na různých parametrech (nejčastěji pH). Tyto média se nazývají jako diagnostické. Agary krevního typu také podléhají hemolýze, díky které mění barvu ne samotné kolonie, nýbrž jejich okolí. [3, 20, 22]

Další biochemické testy se provádějí klasicky in vitro, kterými se z pravidla prokazuje přítomnost různých látek např. oxidázy, katalázy apod. Zvláštním typem takového testu je tzv. *Analytical profile index* (API) test. Pomocí zbarvení několika reagentií lze vypočítat numerický kód, kterému výrobce testu přiřadí určitý typ bakterie. [20]

1.3.3 Přístrojová analýza mikrobiálních kolonií

Rozšířenou přístrojovou analýzou mikrobiálních vzorků je počítání kolonií. Počítání kolonií provádí specializované přístroje; nejprve pořídí snímky mikrobiálních kolonií (nejčastěji z pohledu shora) a následně je analyzují různými algoritmy. Některé z těchto algoritmů jsou rovněž schopné kolonie klasifikovat na základě jejich velikosti, vzdálenosti od ostatních kolonií nebo např. barvy.

Značný zájem si získává také analýza mikrobiálních vzorků z kultivačních kolonií pomocí hmotností spektrometrie, konkrétně technikou *Matrix-assisted laser desorption/ionization - Time of Flight - laserová desorpce za účasti matrice v kombinaci s detektorem doby letu* (MALDI-TOF). Metoda je využívána především pro mikrobiální typizaci. Metodě se podrobně věnuje jedna z následných podkapitol 3.1.

2 Segmentace obrazu

Segmentace obrazu patří mezi fundamentální techniky analýzy obrazu. Jejím účelem je ohraničení objektů v obraze. Existuje mnoho technik segmentace. V kontextu této práce je lze rozdělit na techniky tradiční a na techniky užívající strojové učení. Výsledkem segmentace je obraz, který rozděluje logické celky obrazu do dvou (obraz je potom binární) nebo více skupin. [16]

2.1 Tradiční segmentační techniky

Segmentační metody jsou založeny na mnoha principech; využívají jak skalární tak vektorové parametry obrazu. Matice obsahující hodnoty daného parametru vypočteného z obrazu se nazývají jako *vektorové* (popř. *příznakové*) *mapy*. Klasickými vektorovými parametry v obraze je např. barva. Za vektorové mapy lze považovat i multimodální obrazy. [16]

Základním parametrem, na základě kterého lze segmentovat oblasti obrazu, je jas. Takové přístupy se označují jako prahování. Jedná se o jednoduché metody, kdy se všechny pixely o určité hodnotě jasu zařadí do určité třídy (je jim přidělena jiná hodnota jasu). Práh může být jeden nebo více. V případě jednoho prahu se jedna hodnota přiřazuje všem hodnotám větší než práh a jiná hodnota všem hodnotám menší než práh. V případě více prahů se pak určitá hodnota jasu přiřazuje např. hodnotám v intervalu, jehož okraje jsou rovny prahům a jiná hodnota jasu všem pixelům, jejichž hodnota je mimo interval. Prahy lze určit např. ze sedel v histogramu obrazu nebo je vypočíst různými algoritmy. Zvláštním případem prahování je poloprahování, kdy se určitá hodnota přiřazuje pouze pixelům, které splňují prahovací podmínku; ostatní se nechávají nedotčené. Posledním typem prahování je adaptivní prahování, při kterém je hodnota prahu průběžně aktualizovaná např. výpočtem lokálních histogramů. [16]

Jinými metodami segmentace mohou být hranově orientované metody. Pro detekci hran lze využít množství specifických masek jako např. gradientní masky nebo Laplacián. Dalším možným přístupem je detekce pomocí Houghovy transformace, kterou se detekují hrany objektů v obraze, jež je možné popsat parametrickou křivkou (např. přímky, kružnice elipsy apod.). [16]

Další z technik segmentace je skupina metod označovaná jako regionální segmentace. Prvním zástupcem je metoda segmentace pomocí narůstání oblastí. Začíná v tzv. semínku (jeden z pixelů v obraze) a následně se pro každý pixel z jeho okolí rozhoduje, zda splňuje určitou podmínku; pokud ano, je pixel přidán do narůstající segmentované oblasti a je označen jako další semínko. Iterační algoritmus je ukončen, když jsou prověřena okolí všech semínek. Dalším zástupcem může být metoda

slučování oblastí, kdy se nejprve oblasti rozdělí do několika skupin a následně jsou sousední oblasti slučovány. Kritéria pro slučování oblastí mohou být statická i dynamická. Posledním ze zástupců je metoda pomocí dělení a slučování oblastí. V této metodě jsou nejprve všechny nehomogenní oblasti rozděleny na co nejmenší kusy a následně jsou na základě daného kritéria sousední oblasti opět sloučeny. [16]

Další ze segmentačních přístupů, segmentace metodou povodí, vychází z myšlenky, že intenzita pixelů v obraze může být místo jasových hodnot zobrazena ve třetím rozměru a tvoří tak topografii obrazu. Objekty v obraze skládající se z homogenních oblastí a hrany potom vytváří jakési přehrady. Při postupném zanořování topografie obrazu do kapaliny se definují jednotlivé segmenty ve chvíli, kdy je celá přehrada zaplněna vodou. Metoda dosahuje nejlepších výsledků při použití distanční mapy obrazu místo původního obrazu. [16]

Posledním typem segmentačních metod jsou tzv. kontury. Kontury jsou uzavřené křivky, rozdělující obraz do segmentů. Jejich tvar a pozice v obraze jsou iterativně vypočteny optimalizací výchozích parametrů. Prvním typem kontur jsou tzv. pružné kontury, které lze rozdělit na parametrické a geometrické. Parametrické vychází z fyzikálního modelu, kdy se optimalizuje rovnováha sil vycházejících ze segmentovaného objektu a sil jeho okolí. Geometrické kontury jsou nejčastěji vypočítávány z distanční mapy obrazu a samotný tvar křivky je určen parciální diferenciální rovnicí nazývané jako *level-set* funkce. Geometrické kontury se mohou v průběhu metody rozdělovat slučovat. Aktivní kontury jsou druhým typem kontur a určují se průběžným výpočtem podobnost výchozí definované kontury od souboru manuálně naměřených kontur pomocí *Principle component analysis - analýza hlavních komponent* (PCA). [16]

2.1.1 Tradiční segmentační techniky a mikrobiální kolonie

V rámci rešerše bylo nalezeno několik odborných článků s tematikou segmentace mikrobiálních kolonií pomocí tradičních segmentačních technik.

Článek [2] popisuje aplikaci několika tradičních segmentačních algoritmů na misky s mikrobiálními koloniemi. Nejlepších výsledků bylo dosaženo pomocí techniky rozvodí.

Článek [18] se zabývá vývojem Matlabového nástroje *AutoCellSeg*, jenž segmentuje obraz pomocí prahování vícero prahy a metodou rozvodí. Nástroj vyžaduje zadání prvotní informace pomocí vybrání jedné z kolonií pro odlišení popředí a pozadí.

Další ze článků ([7]) se věnuje tématice počítání kolonií. Ve článku je popsán způsob segmentace obrazu, jenž využívá techniky jako prahování pomocí metody OTSU, adaptivní ekvalizaci histogramu metodou CLAHE a detekci barevných příznaků.

V následující kapitole se tato práce rovněž věnuje algoritmu pro segmentaci mikrobiálních kolonií založeném na tradičních technikách v kontextu praktické části práce.

2.2 Techniky užívající strojové učení

Strojové učení je jednou z podmnožin umělé inteligence. Jedná se o skupinu algoritmů, které vystaví předpoklad výsledné situace za pomoci vstupních dat. Proces, jehož úkolem je minimalizace odchylky mezi skutečnými a reálnými daty, se nazývá *učení*. Učení může probíhat tzv. s učitelem a bez učitele. Učení bez učitele je založeno hledání charakteristických vlastností v datech bez jakékoliv další interpretace. Při trénování s učitelem jsou algoritmu poskytnuta data společně s výsledkem řešené úlohy (výsledek je často získán manuálně).

Asi nejznámějším typem algoritmů strojového učení jsou tzv. umělé neuronové sítě a jejich nejpoužívanější typ konvoluční neuronové sítě. Nejdůležitějším zástupcem algoritmů strojového učení pro segmentaci obrazu jsou algoritmy hlubokého učení.

2.2.1 Hluboké učení

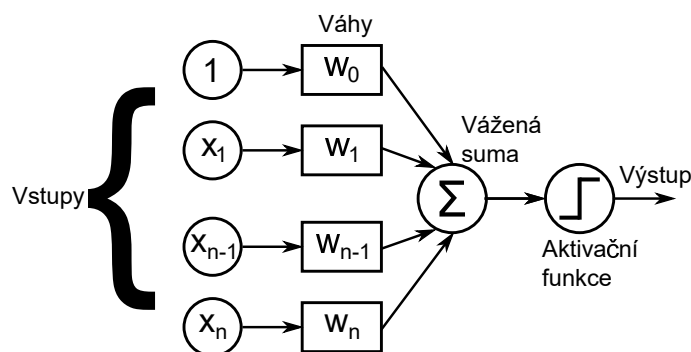
Hluboké učení je zvláštní podmnožinou strojového učení. Aplikace hlubokého učení jsou rozvrženy do vrstev. Tyto architektury se nazývají jako umělé neuronové sítě, které jsou inspirovány sítěmi neuronů v lidském mozku. Jejich nejklassičtějším zástupcem jsou konvoluční neuronové sítě, jejichž nejjednodušší verzí je tzv. perceptron. [11]

2.2.2 Perceptron

Perceptron představuje matematický model neuronu lidského těla. Činnost každého perceptronu lze popsat rovnicí

$$Y = S\left(\sum_{i=1}^N (w_i x_i) + \Theta\right), \quad (2.1)$$

kde S je aktivační funkce, w_i je váha neuronu, x_i je vstupní proměnná, Θ je práh neuronu a Y je výstupní hodnota. Výstupem je tedy výsledná hodnota aktivační funkce, do níž vstupuje váhovaná suma všech vstupů. Učení perceptronu je proces hledání vah dle očekávaného výstupu. Na obr. 2.1 je schéma perceptronu.



Obr. 2.1: Schéma perceptronu

2.2.3 Umělé neuronové sítě

Neuronové sítě se skládají z perceptronů (dále neuronů), které jsou mezi sebou propojeny v jednotlivých vrstvách. Jednotlivé neurony jsou rozmístěny do několika vrstev s tím, že výstup každého neuronu dané vrstvy je zároveň vstupem každého neuronu vrstvy následující. Při trénování neuronové sítě se na základě poskytnutých vstupů a očekávaných výstupů mění váhy w_i každého neuronu. Vyšší počet neuronů v síti zvyšují kvalitu výstupu, avšak trénování a užití sítě je výpočetně náročnější; stejně tak vyšší počet neuronů vyžaduje i vyšší množství trénovacích dat.

2.2.4 Konvoluční neuronové sítě

Konvoluční neuronové sítě jsou zvláštním typem umělých dopředných neuronových sítí. Výstup neuronu však není vypočten, jako váhovaná suma vstupující do aktivační funkce, nýbrž jako výsledek konvoluce vstupů neuronu a jeho konvolučního jádra (jinak řečeno neuron aplikuje na své vstupy filtraci). Jsou to právě hodnoty konvolučních jader, které se mění při procesu učení. Konvoluční neuronové sítě nacházejí široké uplatnění i v dalších oblastech zpracování signálu a obrazu.

2.2.5 Vrstvy sítí

Konvoluční neuronové sítě vždy obsahují vstupní vrstvu, výstupní vrstvu a jednu nebo více skrytých vrstev. V následujících podkapitolách budou popsány nejčastěji užívané typy vrstev. [25, 24]

Konvoluční vrstva

Konvoluční vrstva je jednou z hlavních vrstev konvolučních neuronových sítí a jejím účelem jsou stěžejní výpočty pro řešení zadaného problému. Hlavními parametry

jsou počet konvolučních jader sítě a velikost konvolučního jádra jednotlivých neuronů; při trénování se hledají optima hodnot konvolučních jader.

Aktivační vrstva

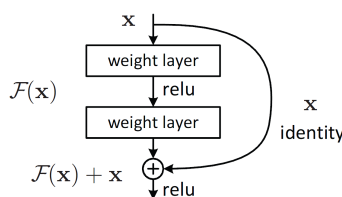
Aktivační vrstva transformuje data z neuronů skrytých vrstev na data výstupní. Nejčastěji užívané transformační funkce jsou skokové funkce, po částech lineární funkce, sigmoidální funkce nebo hyperbolický tangent. [14]

Sdružovací vrstva

Sdružovací vrstva slouží k podvzorkování obrazů. Nejčastěji užívá výpočtu lokálních maxim a lokálních průměrů. Podvzorkování obrazů v neuronových sítích slouží k potlačení detailů velkých objektů oproti detailu malých objektů.

Reziduální vrstva

Zvláštním typem vrstvy je tzv. reziduální vrstva (struktura je na obr. 2.2). Funkce reziduální vrstvy (představena ve článku [13]) spočívá v kopírování obrazů ze sdružovacích vrstev na vstup následných konvolučních vrstev (resp. za výstup předchozích konvolučních vrstev). Na vstup každé z konvolučních vrstev tak jdou jak obrazy filtrované předchozí konvoluční vrstvou, tak i obrazy nefiltrované. V článku [13] bylo empiricky zjištěno, že reziduální vrstvy zlepšují průběhy trénování velmi hlubokých modelů vnesením jednotkové funkce, kterou je jinak pro síť velmi obtížné natrénovat. V důsledku to znamená, že hlubší modely reziduálních architektur mají tendenci dosahovat lepších výsledků než modely mělčí. V architekturách neobsahujících reziduální bloky totiž může docházet ke zhoršování výsledků sítě od určitého počtu vrstev kvůli problémům mizejícího a explodujícího gradientu.



Obr. 2.2: Struktura reziduálního bloku [13]

Ostatní vrstvy

Dalším příkladem vrstev může být např. plně propojená vrstva, která se vyznačuje propojením každého neuronu dané vrstvy s každým neuronem vrstvy předchozí.

Rekurentní neuronové vrstvy užívané v tzv. rekurentních neuronových sítích mají na své vstupy připojené výstupy.

Méně používaným příkladem může být i normalizační vrstva, která vykonává normalizaci hodnot. [25]

Častěji užívaná je pak vrstva k dávkové normalizaci, která se užívá v případě dávkového trénování neuronových sítí. Vrstva zvyšuje podobnost mezi dávkami standardizací vzorků v nich a usnadňuje tím učení sítě. [15]

2.2.6 Architektury sítí

Při vývoji sítí hlubokého učení se ustálily některé architektury a vzory sítí. Takovéto vzory se velice často dále upravují a vylepšují. Následující podkapitola představí některé příklady často používaných a zažitých vzorů sítí hlubokého učení pro segmentaci obrazových dat a architektury týkající se praktické části práce.

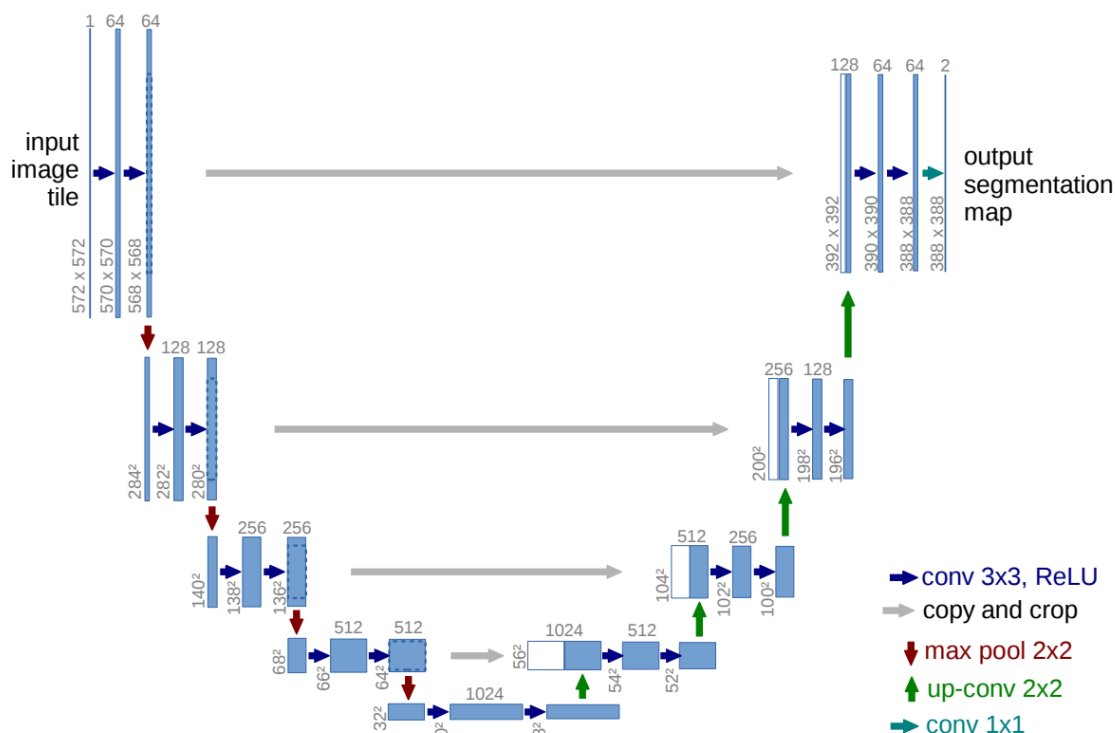
UNet

UNet (diagram na obr. 2.3) spadá do kategorie tzv. plně konvolučních neuronových sítí, které rozšiřují klasické konvoluční síť o možnost poskytnout na vstup sítě obraz libovolné velikosti. Síť byla vytvořena za účelem segmentace biomedicínských obrazů jako např. neuronových struktur nebo radiografických snímků. Její název se odvíjí od vizuální podobnosti blokového diagramu s písmenem U (je typickým příkladem sítě typu enkodér-dekodér).

Vstupem architektury je tříkanálový obraz. Skryté vrstvy vykonávají následující sérii kroků. Nejprve se obraz dvakrát konvoluje s konvolučními jádry a následně je normalizován; při první konvoluci se zdvojnásobí počet příznakových map. Poté je aplikována sdružovací vrstva a dojde ke dvojnásobnému zmenšení obrazu (velikost masky je 2 na 2 pixely). Tento proces se opakuje celkem čtyřikrát a odpovídá enkodérové části architektury. Skryté vrstvy se dále zrcadlí a vytváří blok dekodéru; místo sdružování je aplikována dekonvoluce a před konvolucí s konvolučními jádry je aplikována regularizace ve formě náhodného zahození poloviny příznaků (tento proces je nazýván jako tzv. *dropout*). Dopředné vrstvy rovněž před sdružováním kopírují svůj výstup na vstup odpovídajících zpětných vrstev a počet příznakových map se tak zdvojnásobí. Tyto spoje se nazývají jako zkratkovité spoje. Výstupní vrstva konečně aplikuje aktivační sigmoidální funkci. Výstupem je pravděpodobnost přiřazení daného pixelu do všech segmentačních tříd.

V konvolučních vrstvách začíná počet konvolučních jader na určeném počtu kanálů a v každé další dopředné vrstvě se počet zdvojnásobí; konvoluční jádra mají

zpravidla velikost 3×3 . Konvoluční vrstvy aplikují na svůj výstup aktivační funkci ReLU¹. [21]



Obr. 2.3: Diagram sítě UNet [21]

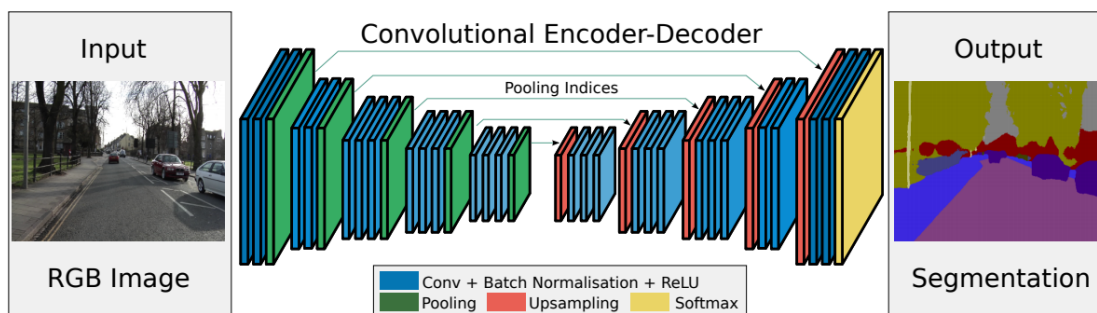
SegNet

Jedná se o konvoluční neuronovou síť přiřazující třídu každému pixelu. Síť (obr. 2.4) je založena na modelu sítě VGG16. Sestává z pěti enkodérových a pěti dekodérových bloků. Každý z enkodérových bloků vykonává sekvenci několika konvolucí, normalizaci, aplikaci ReLU aktivační funkce a konečně podvzorkování. Bloky dekodéru potom právě nadvzorkováním začínají; nastavení podvzorkovacích a nadvzorkovacích částí sítě jsou stejná a tudíž se snižuje čas a paměťová náročnost při jejich trénování. [10, 4]

PSPNet

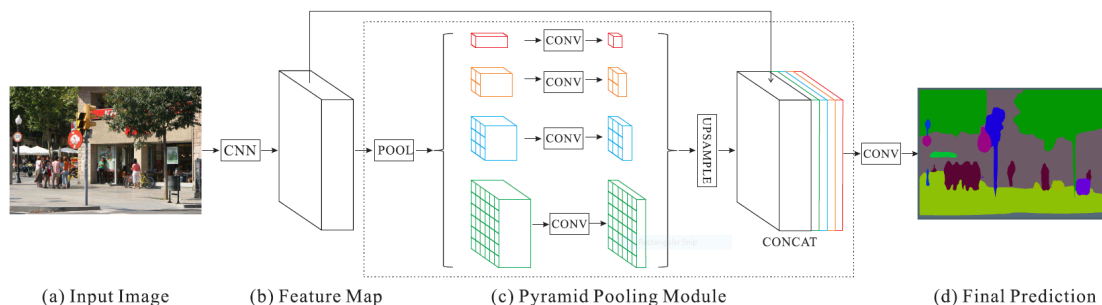
PSPNet (obr. 2.5) pracuje na principu pyramidového parsování scény (odtud pochází její jméno). Prvním krokem zpracování obrazu je získání mapy příznaků konvoluční vrstvou. Příznaková mapa je dále zpracována vrstvou pyramidového sdružování, která paralelně nejprve podvzorkuje obraz a následně jej konvoluje s jádry sítě.

¹Aktivační funkce, jež vrací nezměněné kladné argumenty, a při poskytnutí negativního vstupu vrací nulu.



Obr. 2.4: Diagram sítě SegNet [4]

Paralelní výsledky jsou sloučeny s mapou příznaků a další zpracováním je získán již segmentovaný obraz. Princip získání příznakové mapy pochází ze sítě *ResNet*. [26]



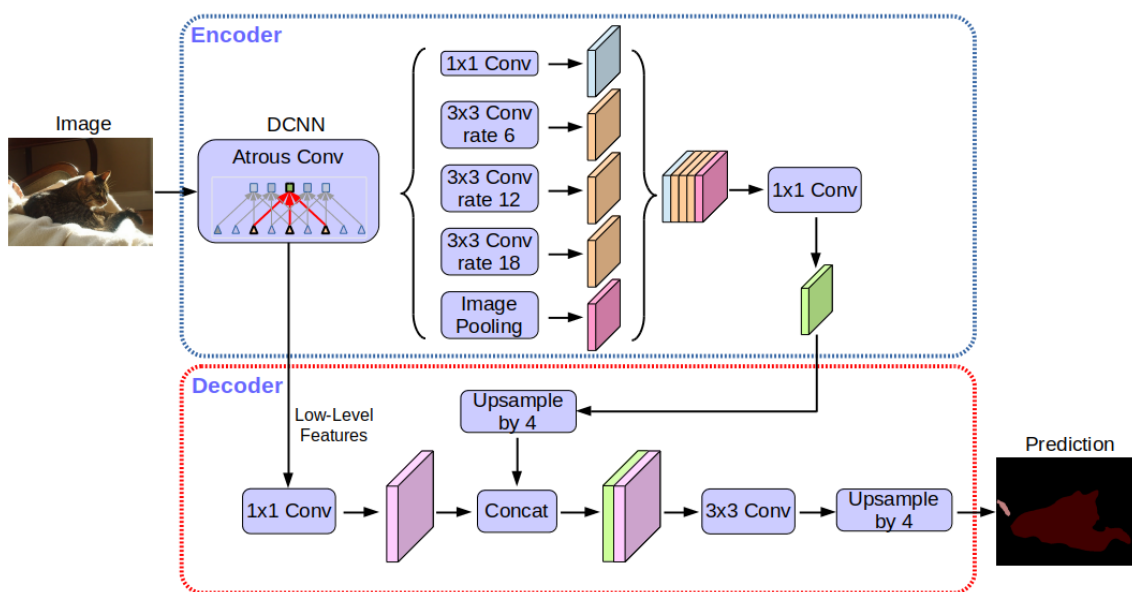
Obr. 2.5: Diagram sítě PSPNet [26]

DeepLab

DeepLab (obr. 2.6) je konvoluční neuronová síť z výzkumných laboratoří firmy Google. Vyšla již ve čtyřech verzích. Na rozdíl např. od sítě UNet (a mnoha dalších) se odlišuje nepoužíváním sdružovací vrstvy pro podvzorkování vstupního obrazu, ale místo toho využívá metody *Atrous spatial pyramid pooling - pyramidové sdružování dilatovanou konvolucí* (ASPP). Jedná se o metodu využívající kombinace dilatované konvoluce, která je založena na postupně se zvětšujícím konvolučním jádře, což umožňuje zaměření různě velkých detailů v obraze a globálního sdružovacího průměrování příznaků. DeepLab rovněž do své architektury zapojuje *Conditional random fields - podmíněné náhodné pole* (CRF), což je metoda zpřesňující hrany segmentovaného objektu. [5, 23]

R-CNN síť

Region-based convolutional neural network - regionová konvoluční neuronová síť (R-CNN) (obr. 2.7) není čistě algoritmem pro sémantickou segmentaci nýbrž algorit-



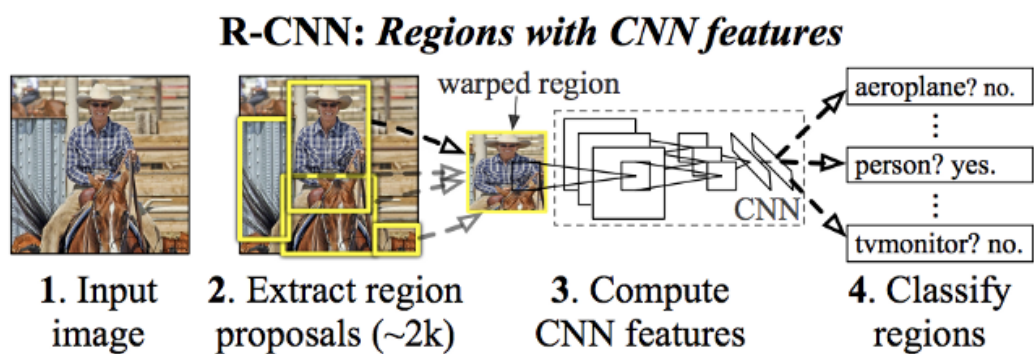
Obr. 2.6: Diagram sítě DeepLab [5]

mus provádí detekci objektů; jedním z kroků je však právě sémantická segmentace. Pracuje na principu selekce dvou tisíc oblastí zájmu pomocí mechanismu selektivního vyhledávání *selective search*. Tyto oblasti jsou následně vstupem do vrstvy sítě, které z oblastí extrahují příznaky. Každému vektoru příznaků je přiřazena třída, které příznaky odpovídají. Na R-CNN síť navazují další modely sítě.

Fast R-CNN místo selekce příznaků aplikuje neuronovou síť na celý obraz a po získání příznaků se aplikuje vrstva *ROI pooling*, která z vektoru získá jednotlivé oblasti zájmu. Na tento model dále navazuje síť *Faster R-CNN*, jež nahrazuje mechanismus *selective search* zvláštní neuronovou sítí. Metodu Faster R-CNN dále rozšiřuje metoda Mask R-CNN přidáním větve, která kromě oblasti zájmu a její klasifikace vrací rovněž masku pro daný objekt. Vrstva ROI pooling je nahrazena vrstvou ROIAlign, která umožňuje klasifikaci jednotlivých pixelů. [12, 9]

2.2.7 UNet++

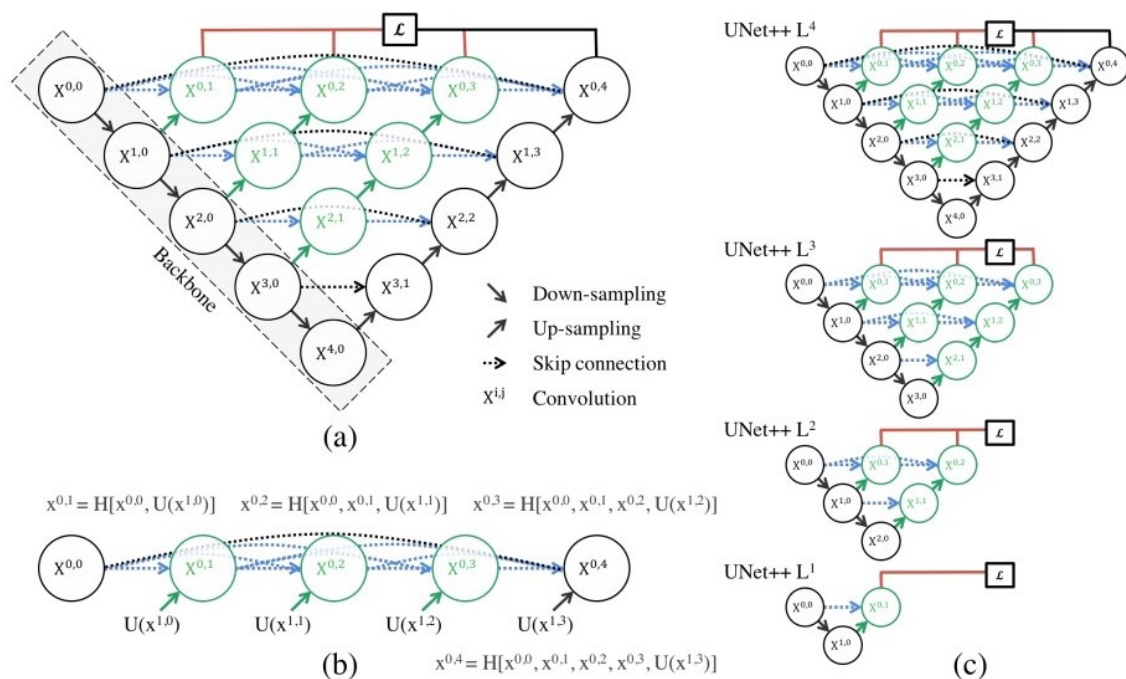
UNet++ je konvoluční neuronová síť, jež se inspiruje architekturou UNet a přináší několik technik k jejímu vylepšení. Základní struktura sítě UNet++ (obr. 2.8a), skládající se ze zrcadlených částí enkodéru a dekodéru se zkratkovitými spoji, je podobná jako u sítě UNet. Zkratkovité spoje však nejsou pouze jednoduché konkatenční propojení, avšak obsahují navíc další konvoluční jádra (obr. 2.8a). Počet konvolučních vrstev v první vrstvě je shodný s hloubkou sítě a je v každé vrstvě dekrementován. Myšlenka konvolučních jader je zvýšení podobnosti příznakových map, které se do bloků dekodéru dostanou průchodem enkodéru a průchodem zkratkovitého spoje.



Obr. 2.7: Diagram sítě R-CNN [9]

Konvoluční jádra ve zkratkovitých spojkách jsou mezi sebou navíc propojené a síť tak lze rozdělit na sobě nezávislé bloky (viz obr. 2.8c). Pro snížení inferenčního času je pak možné použít výstup pouze jednoho z bloků popř. je možné použít průměr ze všech bloků pro zvýšení přesnosti sítě. Rozdělení na bloky navíc umožňuje trénování s tzv. *hlubokou supervizí*, kdy se chyba kritériální funkce počítá z každého bloku zvlášť 2.8b. [27]

Zmíněné úpravy vedly dle článku [27] k lepším výsledkům binární segmentace na různých biomedicínských obrazech oproti architektuře UNet.

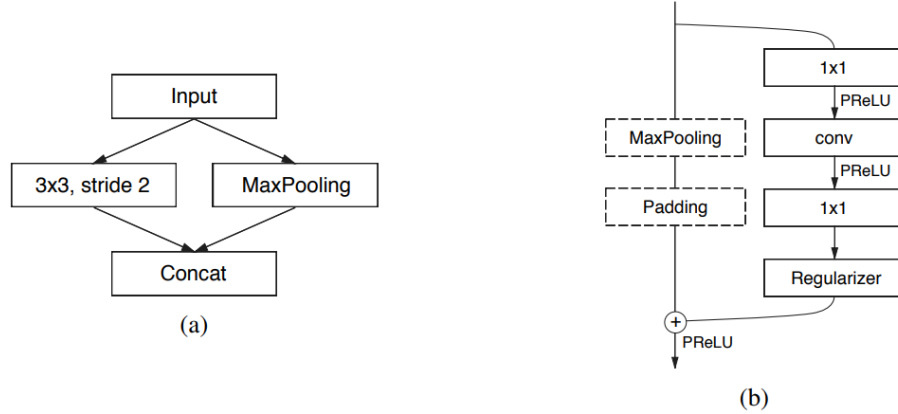


Obr. 2.8: Architektura UNet++ a rozdělení na síť na funkční bloky [27]

2.2.8 ENet

Cílem architektury ENet není zvýšení kvality segmentace, nýbrž výrazné snížení inferenčního času při zachování dostatečné kvality výstupu umožňující užití modelu pro zpracování obrazů v reálném čase. Dle článku [17] síť ENet ve srovnání se sítí UNet nedosáhla přesnějších výsledků (dosáhla cca o 2 % horších výsledků), ale inferenční čas se snížil 10-15 krát.

Architektura sítě představena ve článku [19] se skládá z inicializačního bloku (obr. 2.9a) obsahujícího sdružovací vrstvu a vrstvu provádějící dilatovanou konvoluci, jejíž výstupní příznakové mapy jsou konkatenovány. Na inicializační blok následně navazují vrstvy tvořící strukturu enkodéru a dekodéru, jenž jsou tvořeny tzv. *bottle-neckovými* bloky (obr. 2.9b); ty obsahují kromě aktivačních vrstev PReLU, regularizační vrstvy (v případě ENet se jedná o operaci *drop-out*), sdružovací vrstvy především konvoluční vrstvy. V cestě enkodéru jsou použity klasické, dilatované a asymetrické konvoluce, v cestě dekodéru konvoluce transponované. Jsou to právě dilatované a asymetrické konvoluce, které výrazně snižují výpočetní a tedy i časovou náročnost inference a trénování sítě. Výstupní vrstvou je potom transponovaná konvoluční vrstva, ve které je počet konvolučních jader (a tedy počet výstupních příznakových map) roven počtu segmentačních tříd. Přesné rozmístění a použití jednotlivých tříd je uvedeno v tabulce na obr. 2.10.



Obr. 2.9: Vlevo inicializační blok sítě ENet; vpravo bottle-neckový blok [19]

Name	Type	Output size
initial		$16 \times 256 \times 256$
bottleneck1.0	downsampling	$64 \times 128 \times 128$
$4 \times$ bottleneck1.x		$64 \times 128 \times 128$
bottleneck2.0	downsampling	$128 \times 64 \times 64$
bottleneck2.1		$128 \times 64 \times 64$
bottleneck2.2	dilated 2	$128 \times 64 \times 64$
bottleneck2.3	asymmetric 5	$128 \times 64 \times 64$
bottleneck2.4	dilated 4	$128 \times 64 \times 64$
bottleneck2.5		$128 \times 64 \times 64$
bottleneck2.6	dilated 8	$128 \times 64 \times 64$
bottleneck2.7	asymmetric 5	$128 \times 64 \times 64$
bottleneck2.8	dilated 16	$128 \times 64 \times 64$
<i>Repeat section 2, without bottleneck2.0</i>		
bottleneck4.0	upsampling	$64 \times 128 \times 128$
bottleneck4.1		$64 \times 128 \times 128$
bottleneck4.2		$64 \times 128 \times 128$
bottleneck5.0	upsampling	$16 \times 256 \times 256$
bottleneck5.1		$16 \times 256 \times 256$
fullconv		$C \times 512 \times 512$

Obr. 2.10: Rozmístění vrstev v síti ENet [19]

3 MBT Pathfinder a lokalizace mikrobiálních kolonií

Tato kapitola se věnuje přístroji MBT Pathfinder, jenž spadá do portfolia produktů pro podporu hmotnostních analyzátorů biologických vzorků společnosti Bruker. Budou osvětleny parametry a specifikace algoritmů vytvořeny v rámci praktické části práce v kontextu celé problematiky přístroje MBT Pathfinder.

3.1 Hmotnostní spektrometrie biologických vzorků

Matrix-assisted laser desorption/ionization - laserová desorpce za účasti matrice (MALDI) je technologie, která slouží k tvorbě molekulárních iontů. Ionty vznikají při zásahu analytu s tzv. matricí (speciální kyselina, většinou organického původu) laserovým pulsem, při které dochází k desorpci vzorku. Hmotnostní analyzátoři využívající tuto technologii v kombinaci s technologií *Time of Flight* - doba letu (TOF) urychlují vytvořené ionty působením magnetického pole v trubici o známé délce směrem k detektoru. Obecně platí, že těžší ionty jsou detekovány později než ionty lehčí, jelikož se v trubici pohybují pomaleji. Výsledkem je hmotnostní spektrum.

Při analýze mikrobiálních vzorků se ve spektru projeví obsah ribozomálních proteinů analytu, jejichž složení tvoří ve hmotnostním spektru specifický otisk (tzv. *fingerprint*), dle kterého je možné provádět jejich typizaci. Společnost Bruker má ve své nabídce hmotnostní spektrometry a v kombinaci s rozsáhlou databází mikrobiálních spekter se v této oblasti řadí ke světové špičce.

Příprava mikrobiálních vzorků, prováděná laboratorními pracovníky, začíná rozetřením vybrané kolonie z Petriho misky na MALDI destičku (obr. 3.1). Následně se každý analytický bod ošetří 1 μ l (cca 1 kapkou) α -kyano-4-hydroxyskořicové kyseliny (matrice). Po zaschnutí kyseliny je takto připravená destička připravená na analýzu MALDI-TOF hmotnostní spektrometrií.

3.2 MBT Pathfinder

MBT Pathfinder vyvíjen společností Bruker s.r.o. spadající pod Bruker Daltonik GmbH je přístroj, jehož hlavním úkolem je automatizace procesu transferu bakteriálních kolonií z Petriho misek na MALDI destičky.

Stěžejními částmi přístroje je vozík pro pozicování destičky, reagensů a Petriho misky s mikrobiálními koloniemi a dvě přenosové smyčky. Příprava vzorku probíhá v několika krocích.

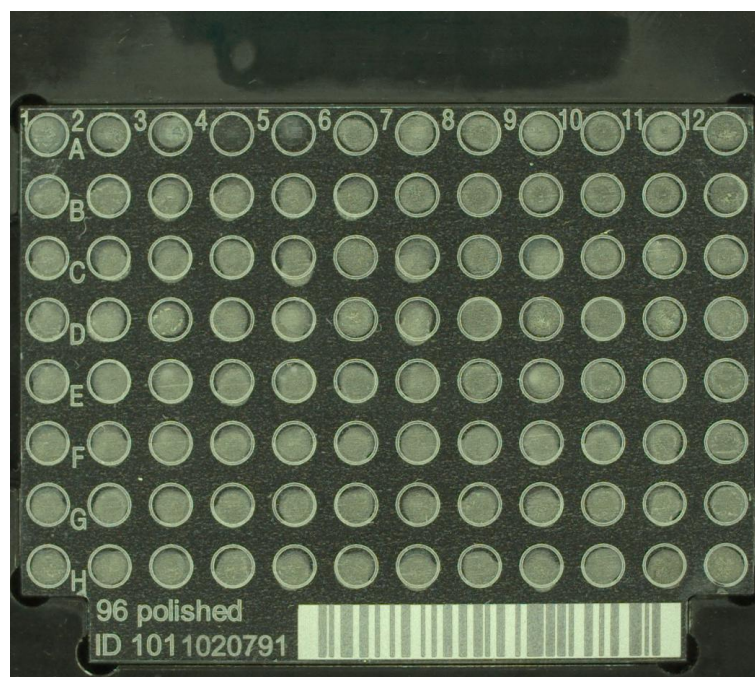
Prvním krokem je vložení misky do přístroje a výběr kolonií k transferu. Kolonie je možné volit manuálně na obrazovce počítače a nebo nechat kolonie předvybrat algoritmem využívající zpracování obrazu a segmentaci. Cílem této práce je vylepšit funkci právě tohoto algoritmu (podrobněji je popsán v následující podkapitole 3.3).

Dále je na danou pozici MALDI destičky nanесena kyselina mravenčí. Ta se někdy využívá i při manuální přípravě a jejím cílem je narušení buněčné stěny, což umožní lepší extrakci buněčného obsahu na připravené pozici.

Následuje nabrání kolonie na špičku přenosové smyčky a její rozetření na pozici s kyselinou mravenčí. Smyčka se po každém přenosu sterilizuje žhavením na vysokou teplotu ve speciální žhavicí komůrce k prevenci křížové kontaminace.

Po vyschnutí spotu je do 30 minut přístrojem nanесena na každou pozici s analytem matrice.

V případě, že po skončení koloniálního transferu nejsou ještě některé pozice suché je destička zahřáta na 50 °C pro urychlení schnutí. Destička je po tomto kroku připravená na analýzu.

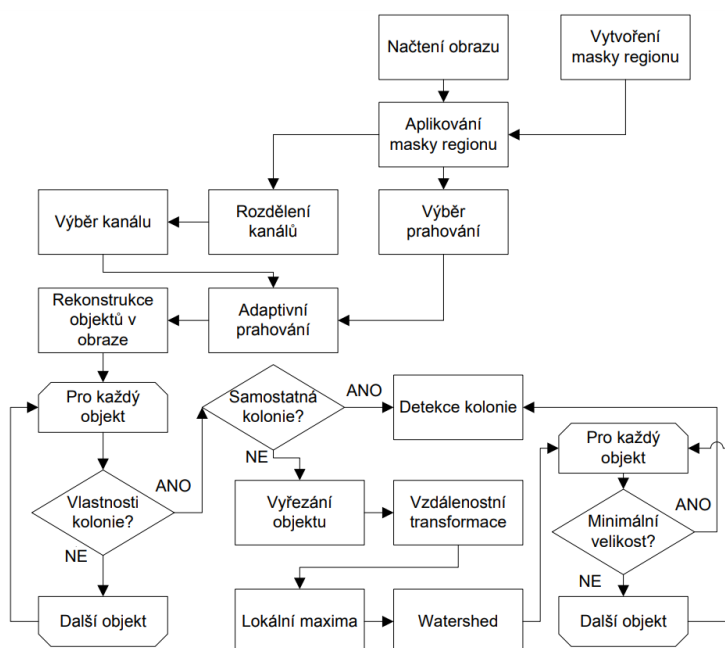


Obr. 3.1: Destička pro analýzu hmotností spektrometrií s mikrobiálními vzorky a nanесenou matricí

3.3 Současný algoritmus pro selekci kolonií

V automatickém módu selekce kolonií z misek se uplatňuje segmentační algoritmus využívající tradiční metody zpracování obrazu. Ze segmentačního obrazu jsou následně vybrány kolonie na základě fitness funkce.

Segmentační algoritmus byl původně vytvořen v rámci vývoje přístroje pro počítání kolonií *ColonyCatcher* od společnosti Biovendor. Blokové schéma algoritmu je na snímku 3.2. Výstupem algoritmu při vstupu snímku s Petriho miskou je binární maska.

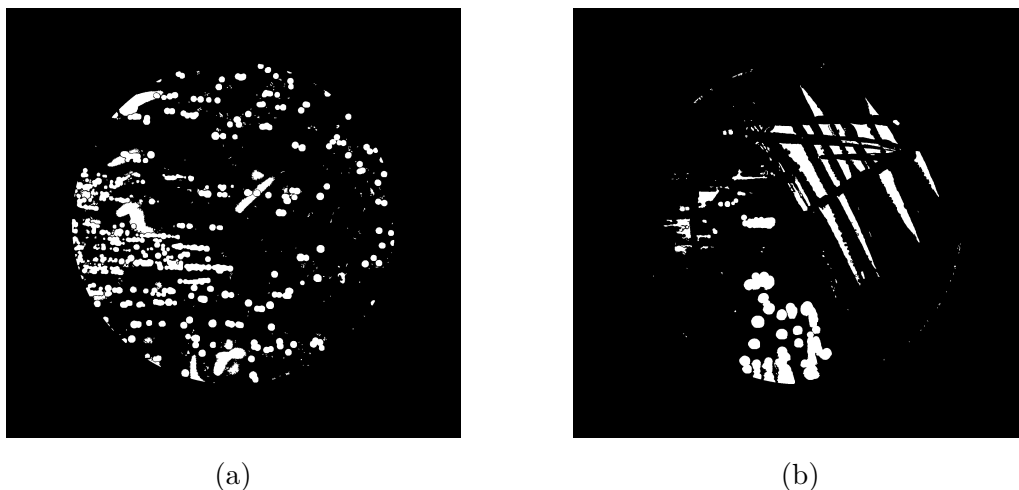


Obr. 3.2: Původní algoritmus pro selekci mikrobiálních kolonií [1]

Z binární masky jsou získány jednotlivé kolonie; pro každou kolonii jsou vypočteny parametry průměru kolonie, nejmenší vzdálenosti od ostatních kolonií a její kruhovitost. Tyto parametry jsou dosazeny do tzv. fitness funkce, ze které je získáno skóre kandidáta.

Při aplikaci algoritmu jsou uživatelem poskytnuty vstupní informace o maximálním a minimálním průměru kolonie, vzdálenosti od ostatních kolonií a kruhovitost kolonií. Z kandidátů jsou vyfiltrovány kolonie a seřazeny dle jejich skóre. V původní aplikaci byl hlavním výstupem počet filtrovaných kolonií (kandidátů). V současné aplikaci jsou představeni uživateli, který vybere ty, jenž mají být přeneseny na MALDI destičku.

Současný segmentační algoritmus byl otestován na testovací množině výchozího datasetu (dataset bude dále představen v podkapitole 3.5). Výsledky budou pou-



Obr. 3.3: Nedokonalosti odezvy původního segmentačního algoritmu - vlevo falešně pozitivní segmentace popisů misky (odezva na obr. 3.5a); vpravo problém segmentace souvislých oblastí (odezva na obr. 3.6a)

žity k porovnání současného segmentačního algoritmu s nově vzniklými řešeními založených na strojovém učení. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 3.1.

Hlavním nedostatkem segmentačního algoritmu je, že jeho návrh vychází z potřeby počítání kruhovitých kolonií a naprosto tedy selhává v souvislých oblastech, které vznikají primárním rozetřením mikrobů na Petriho misce při kultivaci (jak dokumentuje obr. 3.3b). Na obr. 3.3a je odezva algoritmu na obraz s kulatými koloniemi. Na obrázku je možné pozorovat falešně pozitivní označení popisku misky. Výhodou algoritmu je jeho schopnost zpracovat různé typy agarů a velmi nízký inferenční čas.

Z výsledků je patrné, že kvalita segmentačního algoritmu by měla být posuzována dle Dice koeficientu (poprvé popsáném v [8]), jelikož ve vstupních obrazech je výrazný nepoměr mezi velikostmi segmentovaných a nesegmentovaných oblastí. V případě kdy by model neoznačoval žádné oblasti jako kolonie by byl Dice koeficient nulový, avšak přesnost by byla poměrně vysoká. Nevýhodou Dice koeficientu jsou nulové výstupy v případě vstupu, na kterém nejsou žádné oblasti k segmentaci. Právě takové misky jsou i v testovacím datasetu a tento fakt snižuje průměrné hodnoty testovacích výsledků. Medián je tímto jevem ovlivněn v menší míře a zpravidla vychází vyšší než průměr, proto bude použit i v grafech dále v práci.

3.4 Nový algoritmus pro selekci kolonií

Hlavní specifikací nového algoritmu je dostatečná segmentace oblastí větší než 1 mm (1 mm je garantované rozlišení pozicování přenosové smyčky přístroje MBT Path-

Tab. 3.1: Výsledky původního segmentačního algoritmu při vstupu dat z testovací množiny

Metrika		Výsledek
Přesnost	Průměr	0.838
	Medián	0.818
	Maximum	0.996
	Minimum	0.664
Dice koeficient	Průměr	0.321
	Medián	0.316
	Maximum	0.755
	Minimum	0.008
Sensitivita	Průměr	0.622
	Medián	0.587
	Maximum	0.982
	Minimum	0.193
Pozitivní prediktivita	Průměr	0.284
	Medián	0.194
	Maximum	0.792
	Minimum	0
Inferenční čas [s]	Průměr	1.04
Paměťová náročnost [MB]	Maximum	427.000

finder). Přístroj by měl být schopen segmentovat kolonie na jakémkoliv typu agaru. Algoritmus musí být rovněž schopen segmentovat i souvislé oblasti kolonií. Inferenční čas by z aplikačního hlediska neměl překročit 45 vteřin na jeden obraz.

Modely v praktické části jsou vyvinuty v programovacím jazyce *Python* s knihovnamí *Tensorflow*, *Keras*, *Pillow*, *NumPy* a *SKLearn*. Učení sítí bude probíhat na grafické kartě NVidia RTX8000 se 48 GB paměti. Pro zvýšení počtu obrázků v jedné várce (batch) jsou obrazy rozřezány na obrazy velikosti 512 na 512 pixelů pro snížení paměťové náročnosti (limitní inferenční čas tedy odpovídá 2.8125 s na jeden díl původního obrazu).

Inferenční časy jsou testovány na systému bez dedikované grafické karty s procesorem Intel i5-8350U a 16 GB paměti RAM.

U nového algoritmu se nepředpokládá vysoká paměťová náročnost a cílový systém, na kterém algoritmus bude spouštěn, má 16 GB paměti RAM. Přesto jsou dále v práci pro úplnost paměťové nároky jednotlivých modelů uvedeny.

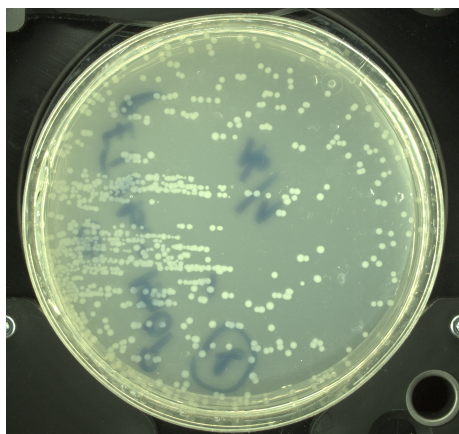
3.5 Výchozí dataset

Pro vývoj jednotlivých modelů bude použit dataset o celkové velikosti 474 snímků (z toho 43 bude v testovací množině, 335 bude v množině trénovací a 96 v množině validační). Pro každý snímek byla vytvořena referenční maska v rámci jiné diplomové práce. Obrazy obsahují Petriho misky s různými typy agarů, kolonií a roztěrů (roztěr ovlivňuje tvar kolonií). Obrazy jsou uloženy v souborech s příponou *.png* o velikosti 1900 na 1800 pixelů. Příklady snímků z datasetu a odpovídající masky jsou na obr. 3.4, 3.5, 3.6 a 3.7.

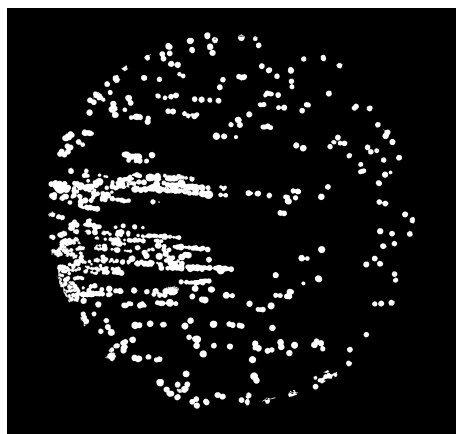
Obrazy výstupů modelů budou v práci barevně označeny. Bílá barva značí pravdivě pozitivní segmentaci, černá pravdivě negativní, žlutá falešně negativní a červená falešně pozitivní.



Obr. 3.4: První příklad obrazu z datasetu a jeho masky (vlevo originální snímek; vpravo maska)

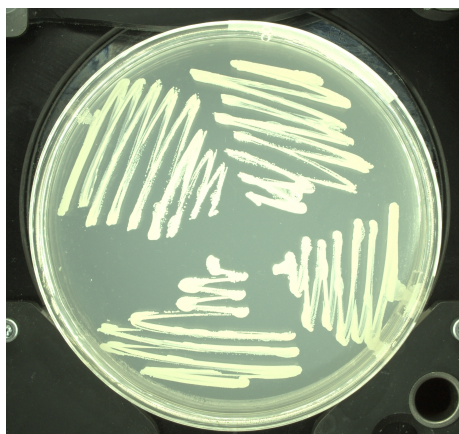


(a)

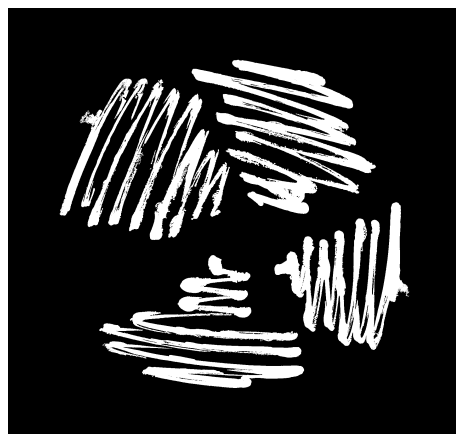


(b)

Obr. 3.5: Druhý příklad obrazu z datasetu a jeho masky (vlevo originální snímek; vpravo maska)



(a)



(b)

Obr. 3.6: Třetí příklad obrazu z datasetu a jeho masky (vlevo originální snímek; vpravo maska)



(a)



(b)

Obr. 3.7: Čtvrtý příklad obrazu z datasetu a jeho masky (vlevo originální snímek; vpravo maska)

4 Návrh a implementace architektury sítě UNet

V této kapitole budou představeny implementované modely architektury UNet. Bylo implementováno a natrénováno množství modelů na nichž byly pozorovány vlivy počtu vrstev, konvolučních jader a přítomnosti reziduálních bloků.

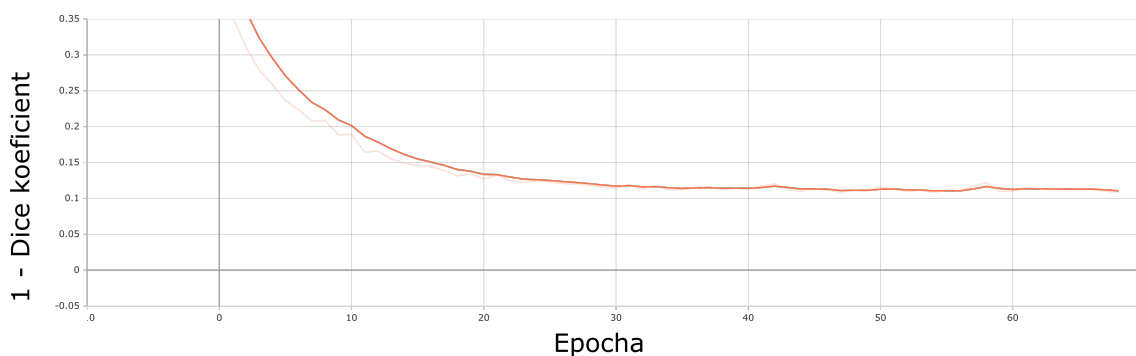
4.1 Implementace modelu a jeho trénování

Architektura UNet je podrobně popsána v podkapitole 2.2.6. V rámci praktické části práce bylo natrénováno 25 modelů sítí s 1-5 konvolučními vrstvami a pro každý počet vrstev pak 4, 8, 16, 32 a 64 konvolučních jader v první konvoluční vrstvě (v následných konvolučních vrstvách se počet kanálů dvojnásobí).

Byť v původní architektuře (článek [21]) nejsou použity reziduální vrstvy (podrobně popsány v podkapitole 2.2.5) v rámci praktické části byl jejich vliv v architektuře UNet prověřen.

Při trénování modelů architektury UNet byl použit učící algoritmus *ADAM* s učícím krokem $1 \cdot 10^{-5}$ (učící krok byl určen empiricky) a jako metrika kritériální funkce koeficient Dice (resp. koeficient Dice odečtený od jedné, aby byla kritériální funkce klesající).

Učení probíhalo ve 100 epochách a bylo použito metod předčasného ukončení učení, v případě, že se validační chyba nesnížila v 15 po sobě jdoucích epochách. Rovněž bylo využito dynamické upravování učícího kroku; v prvních deseti epochách se učící krok neměnil; poté se v dalších epochách snižoval. Na obr. 4.1 je příklad průběhu kritériální funkce, ze které je patrné že učení vedlo ke snižování chyby a model konvergoval k optimálnímu řešení.



Obr. 4.1: Příklad průběhu kritériální funkce (UNet o 5 vrstvách s 64 kanály v první konvoluční vrstvě)

Tab. 4.1: Srovnání vybraných natrénovaných modelů UNet

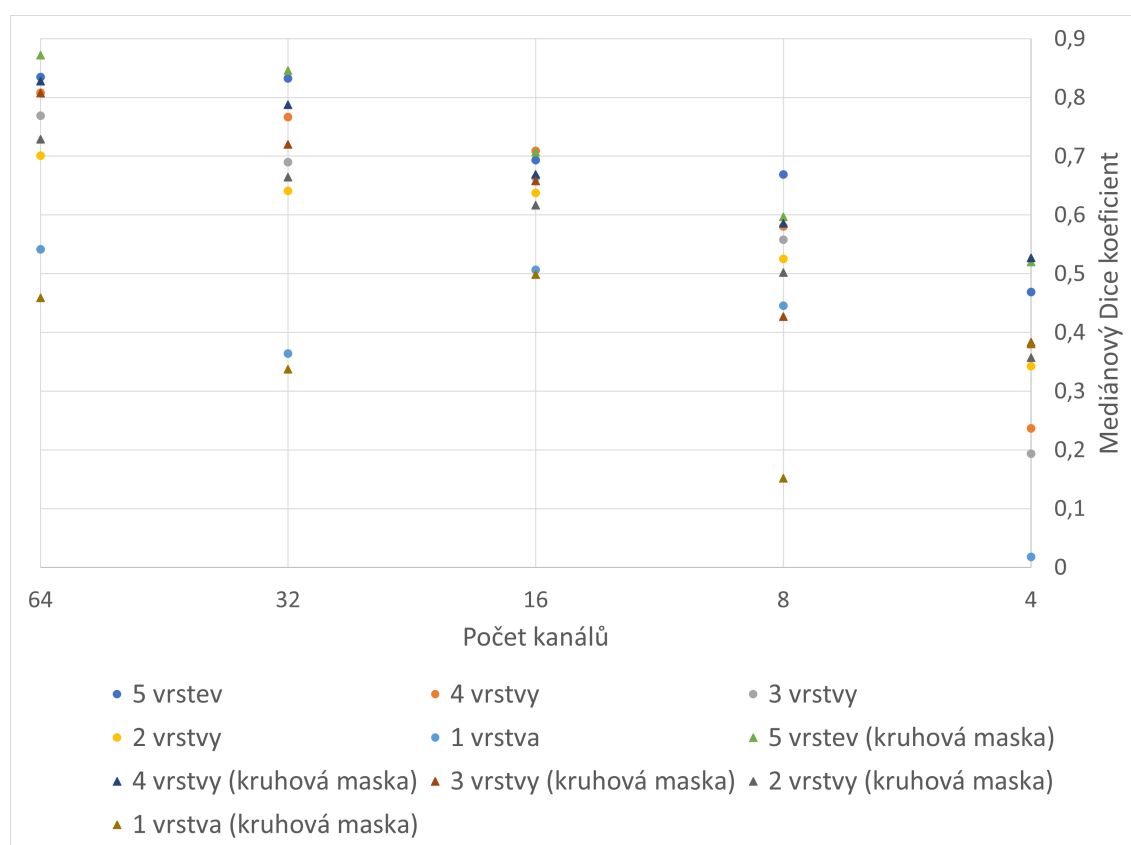
Metrika		Model			
		4 vrstvy a 32 kanálů	4 vrstvy a 64 kanálů	5 vrstev a 32 kanálů	5 vrstev a 64 kanálů
Přesnost	Průměr	0.911	0.915	0.930	0.920
	Medián	0.958	0.962	0.970	0.973
	Maximum	1	1	1	1
	Minimum	0.003	0.006	0.065	0.028
Dice koeficient	Průměr	0.660	0.667	0.727	0.691
	Medián	0.767	0.808	0.832	0.834
	Maximum	0.991	0.990	0.994	0.994
	Minimum	0	0	0	0
Sensitivita	Průměr	0.666	0.695	0.706	0.728
	Medián	0.787	0.820	0.810	0.870
	Maximum	0.999	0.999	0.999	1
	Minimum	0	0	0	0
Pozitivní prediktivita	Průměr	0.752	0.752	0.805	0.741
	Medián	0.958	0.956	0.967	0.936
	Maximum	1	1	1	1
	Minimum	0	0	0	0
Inferenční čas [s]	Průměr	1.00	2.97	1.18	3.39
Paměťová náročnost [MB]	Maximum	436.629	608.137	443.559	790.492

4.1.1 Vliv počtu vrstev a konvolučních jader

Z grafu 4.2 (a tabulky 4.1) je patrné, že s narůstajícím počtem parametrů, které se odvíjejí od počtu vrstev a počtu kanálů v jednotlivých vrstvách roste testovací medián Dice koeficientu. Z toho vyplývá, že i přes velmi vysoký počet trénovatelných parametrů (124 410 305 pro model s 5 vrstvami a 64 kanály v první konvoluční vrstvě) nedochází k nedoučování modelů. Jednou z nevýhod takto rozsáhlých sítí je doba učení, která např. u modelu s 5 vrstvami a 32 kanály činila 13 hodin a 15 minut.

Nejvyššího mediánu koeficientu Dice 0.834 dosahuje model s 5 vrstvami a 64 kanály v první vrstvě. Jen o něco nižší hodnoty 0.832 dosahuje model s pěti vrstvami a 32 kanály v první vrstvě, tento model však dosahuje vyšších hodnot průměrného

Dice koeficientu. Nižší hodnoty průměru a mediánu sensitivity a vyšší hodnoty průměru a mediánu pozitivní prediktivity napovídají tomu, že odezva modelu obsahovala v průměru více falešně negativních a méně falešně pozitivních zatřídění. Velmi významně se modely rovněž liší v inferenčních časech, kdy model s vyšším počtem kanálů dosahuje průměrného inferenčního času 3.39 s a model s nižším počtem kanálů 1.18 s. Tento jev je možné pozorovat i u modelů s 4 vrstvami 32 a 64 kanály. V tomto případě však model s více kanály předčí model s méně kanály v průměrech i mediánech všech pozorovaných metrik s výjimkou pozitivní prediktivity, kde jsou však rozdíly zanedbatelné.

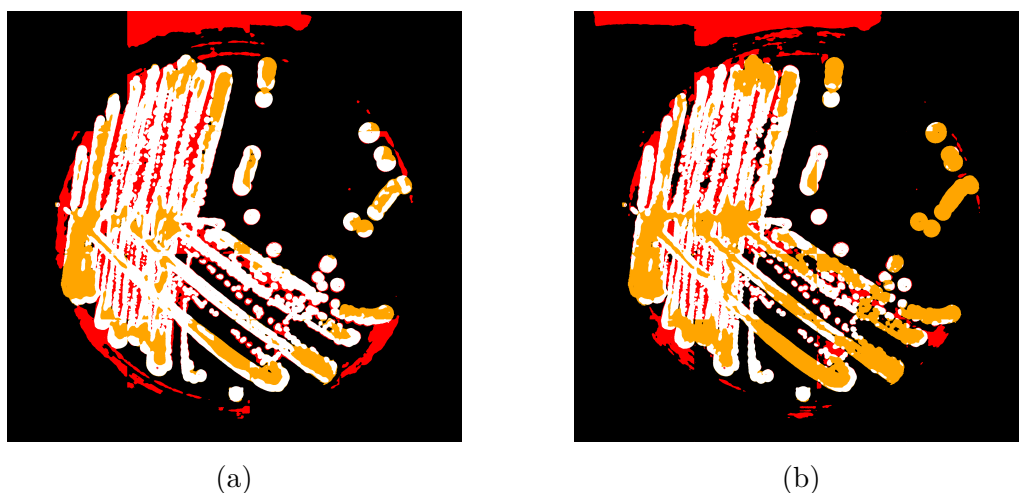


Obr. 4.2: Závislost Dice koeficientu na počtu kanálů a vrstev

Výsledné modely fungují velmi dobře na obrazech misek s krevními agary; kvalitně se segmentují světlé i tmavé kolonie. Chyby modelu se projevují především na miskách se světlým agarem a koloniemi obsahující souvislé oblasti (např. z křížového roztěru). Chyba je zřejmě způsobena nedostatkem těchto misek ve trénovacím datasetu (v datasetu převažují misky s krevními agary a s bílými agary obsahující tečkované kolonie; bílé misky s křížovými roztěry nejsou příliš časté). Porovnání segmentace světlé misky se souvislými oblastmi modely o pěti vrstvách se 32 a 64 kanály jsou na obr. 4.3. Lze pozorovat špatné segmentace souvislých oblastí; malé oblasti

a kruhové kolonie jsou segmentovány správně. Lze si také povšimnout falešně pozitivního označení aretační páčky v horních částech obrazů. Z praktického hlediska takové chování modelů nečiní problémy, ale chyba se projeví ve výsledcích. Další příklady výsledků modelů jsou na obr. 4.4 a 4.5.

Nevýhodou modelu s 64 kanály v první vrstvě dlouhý inferenční čas 3.39 s. Jedná se však délku odezvy pouze na část obrazu 512x512, takže výsledný inferenční čas by byl 16 krát větší (cca 54.24 s). Model tak nesplňuje podmínky pro aplikační použití. Inferenční doba modelu s 32 vrstvami je výrazně nižší (1.18 s) a tím pádem by jeho použití v aplikačním prostředí možné bylo.



Obr. 4.3: Příklady nedokonalostí segmentace (odezva na obr. 3.7a) - vlevo model s 5 vrstvami a 32 kanály v první konvoluční vrstvě; vpravo model s 5 vrstvami a 64 kanály v první konvoluční vrstvě

4.1.2 Modely s reziduálními bloky

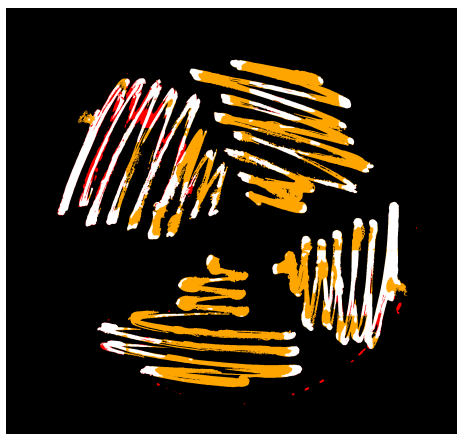
V praktické části byl pro modely s nejlepšími výsledky (5 vrstev s 64 a 32 kanály v první vrstvě) natrénován i totožný model s reziduálními bloky (výsledky v tabulce 4.2).

Reziduální model s 32 kanály dosahoval vyšších průměrů a nižších mediánů všech sledovaných metrik oproti reziduálnímu modelu se 64 kanály. Rozdíl průměrů hodnot je však ve všech případech vyšší než rozdíl mediánů hodnot.

V případě modelu s 32 kanály přispěly reziduální bloky ke zvýšení mediánu i průměru Dice koeficientu. Rovněž došlo ke zlepšení sensitivity za cenu zhoršení pozitivní prediktivity. Reziduální vrstvy u modelu se 64 kanály zlepšily průměry i mediány hodnot výstupu ve všech sledovaných metrikách vyjma inferenčního času.

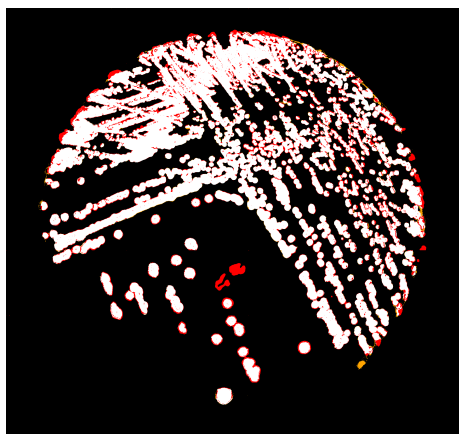


(a)

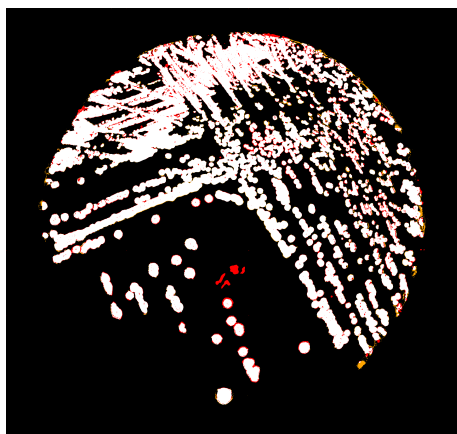


(b)

Obr. 4.4: Odezva modelů na obr. 3.6a - vlevo model s 5 vrstvami a 32 kanály v první konvoluční vrstvě; vpravo model s 5 vrstvami a 64 kanály v první konvoluční vrstvě



(a)



(b)

Obr. 4.5: Odezva modelů na obr. 3.4a - vlevo model s 5 vrstvami a 32 kanály v první konvoluční vrstvě; vpravo model s 5 vrstvami a 64 kanály v první konvoluční vrstvě

U obou modelu došlo ke zvýšení inferenčních časů. Model s 32 vrstvami s inferenční dobou 2.14 s splňuje limit pro nasazení v aplikačním prostředí.

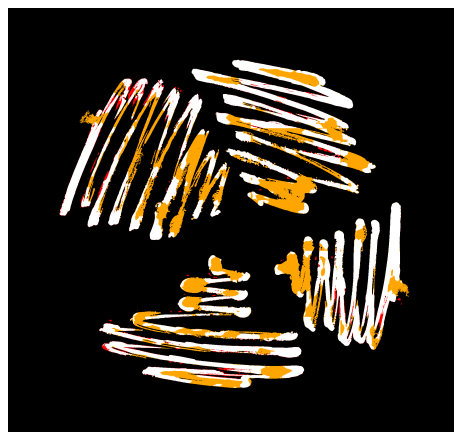
Na obrázcích 4.6 a 4.7 lze pozorovat označení většího počtu kolonií reziduálním modelem s 32 kanály oproti reziduálnímu modelu s 64 kanály, čemuž odpovídá vyšší průměrná sensitivita modelu s 32 kanály.

Tab. 4.2: Srovnání vybraných natrénovaných modelů UNet

Metrika		Model s reziduálními bloky	
		5 vrstev a 32 ka- nálů	5 vrstev a 64 ka- nálů
Přesnost	Průměr	0.945	0.936
	Medián	0.978	0.978
	Maximum	1	1
	Minimum	0.180	0.019
Dice koeficient	Průměr	0.749	0.723
	Medián	0.875	0.880
	Maximum	0.992	0.996
	Minimum	0	0
Sensitivita	Průměr	0.766	0.755
	Medián	0.889	0.893
	Maximum	1	1
	Minimum	0	0
Pozitivní prediktivita	Průměr	0.781	0.754
	Medián	0.936	0.938
	Maximum	1	1
	Minimum	0	0
Inferenční čas [s]	Průměr	2.14	5.60
Paměťová náročnost [MB]	Maximum	495.457	989.957



(a)



(b)

Obr. 4.6: Odezva reziduálních modelů na obr. 3.6a - vlevo reziduální model s 5 vrstvami a 32 kanály; vpravo reziduální model s 5 vrstvami a 64 kanály



(a)



(b)

Obr. 4.7: Odezva reziduálních modelů na obr. 3.7a - vlevo reziduální model s 5 vrstvami a 32 kanály; vpravo reziduální model s 5 vrstvami a 64 kanály

5 Návrh a implementace architektury sítě UNet++

UNet++ je další z implementovaných architektur v rámci praktické části. Její princip je popsán v podkapitole 2.2.7.

5.1 Implementace modelu a jeho trénování

V rámci práce byly zkoumány tři konfigurace architektury UNet++ lišící se výstupem sítě. Výstupem první konfigurace (s hlubokou supervizí a bez konkatenace) je příznaková mapa konkatenovaných čtyř nezávislých bloků (výřez diagramu na obr. A.2). Při vybavování se provádí hloubkové průměrování a následné zaokrouhlení pro získání binárních hodnoty. Výstupem druhé konfigurace (s hlubokou supervizí a konkatenací) je rovněž zmíněná příznaková mapa, avšak její hodnoty dále vedou do 1x1 konvoluční vrstvy se sigmoidální aktivací (výřez diagramu na obr. A.1). Tím je získána chtěná dimenzionalita výstupu. V třetí konfiguraci (bez hluboké supervize) je výstupem pouze čtvrtý nejhlubší nezávislý blok (výřez diagramu na obr. A.3).

Trénování modelů probíhalo se stejnými parametry jako v případě sítě UNet.

Nejlepších výsledků (výsledky jsou uvedeny v tabulce 5.1) bylo překvapivě dosaženo u nejjednodušší konfigurace sítě, ve které nebyla použita hluboká supervize. Konfigurace modelu předčila konfiguraci s hlubokou supervizí bez konkatenace ve všech sledovaných metrikách s výjimkou nepatrně vyššího inferenčního času. Model s hlubokou supervizí a konkatenací dosahoval lepších hodnot pozitivní prediktivity, avšak výrazně nižší sensitivita vedla ke snížení průměru i mediánu Dice koeficientu.

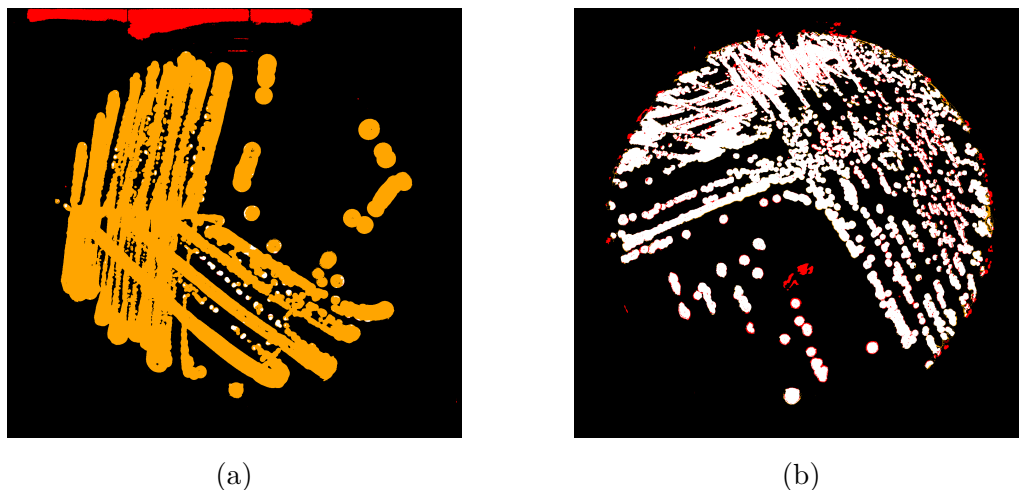
Všechny modely dokázaly přesně segmentovat obr. s krevními agary (příklad odezvy na obr. 5.1b). Potýkaly se však s problémem zobecnění kolonií na světlých agarech a kolonie jiného tvaru než kruhovitého vůbec neoznačovaly jako výstup (jak dokumentuje obr. 5.1a). To vysvětluje výrazné rozdíly průměrného koeficientu Dice v porovnání se sítěmi UNet. I přes to, že inferenční časy u všech konfigurací převyšují stanovené limity, v rámci práce budou představeny experimenty jejichž účelem je zvýšit kvalitu výstupu trénovaných modelů architektury UNet++. Architektura UNet++ umožňuje *prořezání* natrénovaných modelů, čímž by mohlo dojít ke snížení inferenčních časů při zachování dostatečné kvality modelu jako je popsáno ve článku [27].

Tab. 5.1: Srovnání vybraných natrénovaných konfigurací architektury UNet++

Metrika		Model		
		S hlubokou supervizí a konkatencí	S hlubokou supervizí bez konkatence	Bez hluboké supervize
Přesnost	Průměr	0.853	0.893	0.899
	Medián	0.896	0.964	0.965
	Maximum	1	1	1
	Minimum	0.002	0	0.002
Dice koeficient	Průměr	0.484	0.472	0.561
	Medián	0.525	0.603	0.753
	Maximum	0.982	0.987	0.989
	Minimum	0	0	0
Sensitivita	Průměr	0.473	0.520	0.681
	Medián	0.507	0.701	0.852
	Maximum	0.993	1	1
	Minimum	0	0	0
Pozitivní prediktivita	Průměr	0.724	0.498	0.600
	Medián	0.990	0.721	0.850
	Maximum	1	1	1
	Minimum	0	0	0
Inferenční čas [s]	Průměr	3.24	2.99	3.03
Paměťová náročnost [MB]	Maximum	429.262	435.027	428.992

5.2 Vliv počtu filtrů

Konfigurace sítě bez hluboké supervize měla 4 882 017 trénovatelných parametrů a dosahuje srovnatelných výsledků jako UNet o 3 vrstvách a 32 kanály v první vrstvě, který však obsahuje pouze 1 931 233 parametrů. Pro zlepšení výsledků sítě byly zvýšeny počty filtrů v jednotlivých vrstvách na dvojnásobné a čtyřnásobné množství oproti původním konfiguracím. Z grafu na obr. 5.2 lze pozorovat trend zvyšujícího se mediánu Dice koeficientu. Nejlepších výsledků ve všech případech dosahovala



Obr. 5.1: Odezva modelu bez hluboké supervize - vlevo odezva na obr. 3.7a; vpravo odezva na obr. 3.4a

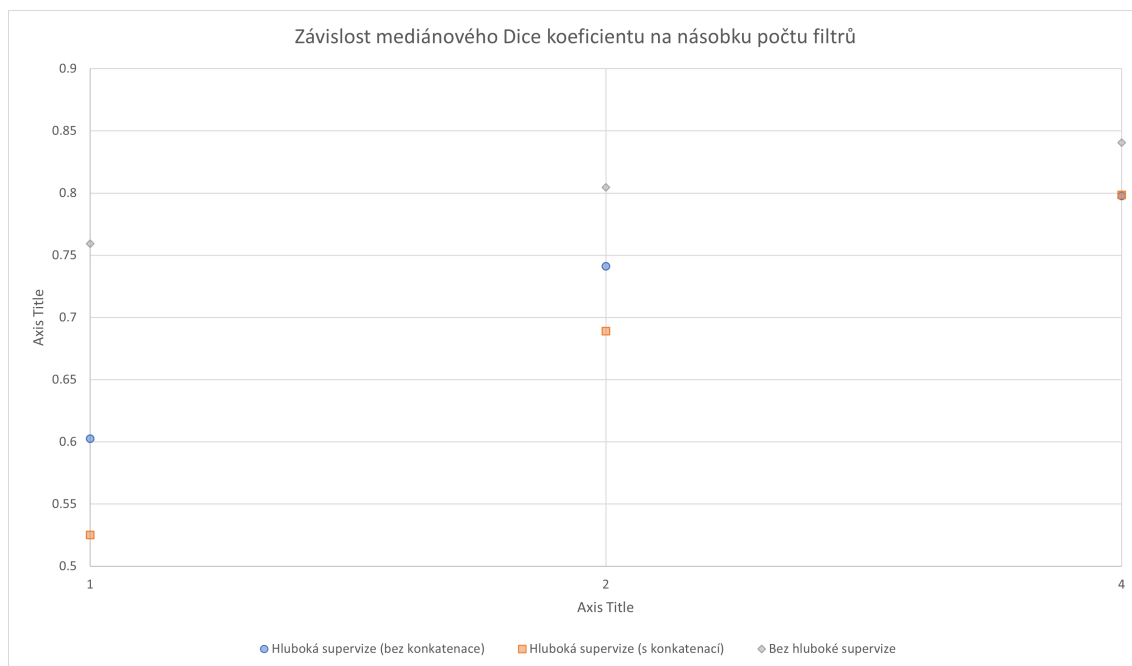
konfigurace bez hluboké supervize, jejíž výsledky jsou podrobně rozepsány v tabulce 5.2.

Vyšší počty filtrů zlepšily preciznost segmentace, čemuž odpovídá s zvýšení sensitivity a pozitivní prediktivity, avšak neodstranily problém nesegmentování souvislých oblastí na miskách s bílým agarem. Výraznou nevýhodou je rovněž zvýšení inferenčních časů na 9.14 pro dvojnásobný a 31.48 sekund pro čtyřnásobný počet filtrů. Z aplikačního hlediska jsou tedy modely UNet++ o původních pěti vrstvách nepoužitelné, jelikož ani modely s nejvyšším počtem filtrů svým průměrným Dice koeficientem nepřesahují jednodušší modely architektury UNet (např. model se 4 vrstvami a 32 kanálech). Na obr. 5.3 je příklad odezvy modelů s dvojnásobným a čtyřnásobným počtem filtrů, na kterých lze pozorovat mírné zlepšení při segmentaci kolonií na bílém agaru u modelů s větším počtem kanálů.

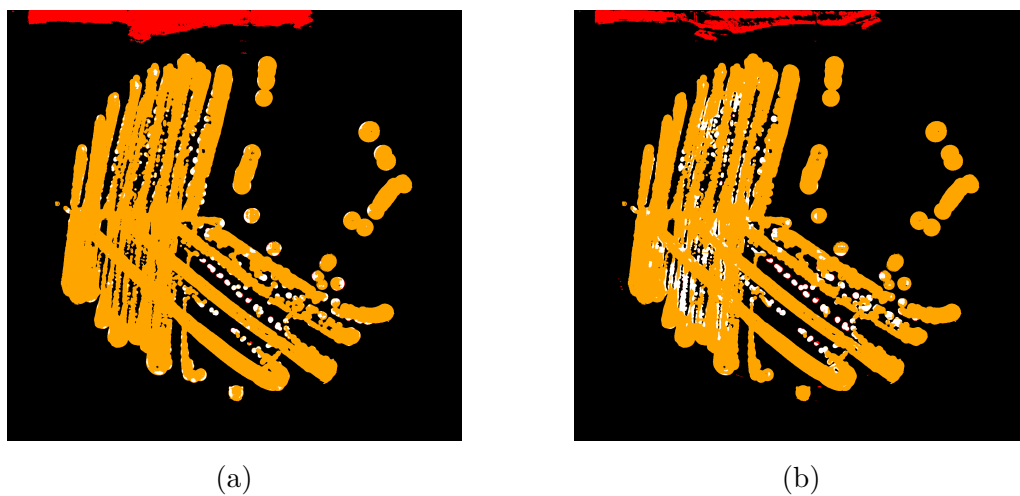
5.3 Zvýšení počtu vrstev

Zvýšení počtu filtrů vedlo k výrazným zvýšením inferenčních časů a nevyřešilo problém se souvislými oblastmi kolonií na bílých agarech. Jako alternativa byl natrénován model (v konfiguraci bez hluboké supervize), jenž byl doplněn o šestou a sedmou konvoluční vrstvu; výsledky jsou uvedeny v pravé části tabulky 5.2.

Přidání jedné vrstvy přineslo mírné zlepšení modelu ve všech sledovaných metrikách. Inferenční čas byl zvýšen na 4.66 s. K výraznému zlepšení ve všech sledovaných metrikách pak došlo u modelu s dvěma přidanými vrstvami. Oproti původnímu modelu došlo k zlepšení ve všech sledovaných metrikách a model překonal svými výsledky i model s nižším počtem vrstev a čtyřnásobným počtem filtrů za nižšího



Obr. 5.2: Příklad průběhu kritériální funkce (UNet o 5 vrstvách s 64 kanály v první vrstvě)



Obr. 5.3: Odezva modelu na obr. 3.7a - vlevo model s dvojnásobným počtem filtrů; vpravo model s čtyřnásobným počtem filtrů

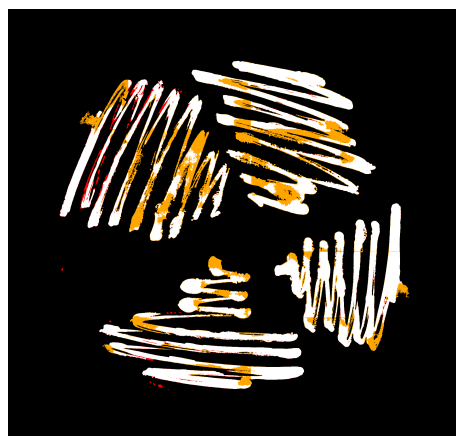
průměrného inferenčního času. Nejmarkantnějšího zlepšení bylo dosaženo u modelu s dvěma přidanými vrstvami především z hlediska průměrného Dice koeficientu, což bylo způsobeno výrazným zlepšením modelu při segmentaci obrazů misek se světlým agarem, jak dokumentují obrazy 5.4.

Tab. 5.2: Srovnání natrénovaných modelů UNet++ bez hluboké supervize dle násobku filtrů

Metrika		Model				
		Originální	Dvojnásobný počet filtrů	Čtyřnásobný počet filtrů	Přidaná vrstva	Dvě přidané vrstvy
Přesnost	Průměr	0.899	0.911	0.918	0.904	0.931
	Medián	0.965	0.971	0.973	0.969	0.975
	Maximum	1	1	1	1	1
	Minimum	0.002	0.002	0.026	0.002	0.008
Dice koeficient	Průměr	0.561	0.608	0.636	0.574	0.695
	Medián	0.753	0.805	0.840	0.775	0.853
	Maximum	0.989	0.992	0.992	0.993	0.993
	Minimum	0	0	0	0	0
Sensitivita	Průměr	0.681	0.713	0.753	0.711	0.765
	Medián	0.852	0.874	0.900	0.880	0.892
	Maximum	1	1	1	1	1
	Minimum	0	0	0	0	0
Pozitivní prediktivita	Průměr	0.600	0.648	0.664	0.607	0.707
	Medián	0.850	0.916	0.925	0.873	0.903
	Maximum	1	1	1	1	1
	Minimum	0	0	0	0	0
Inferenční čas [s]	Průměr	3.03	9.14	31.48	4.66	7.01
Paměťová náročnost [MB]	Maximum	449.125	484.090	571.070	532.672	642.145



(a)



(b)

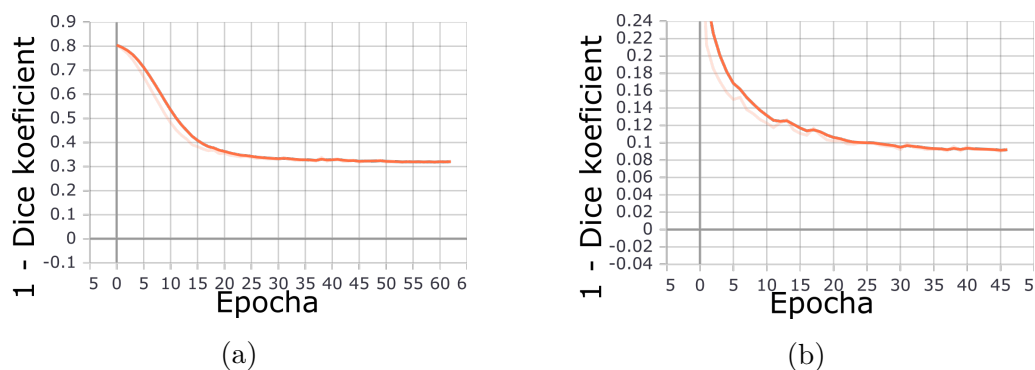
Obr. 5.4: Odezva modelů s přidanými vrstvami na obr. 3.6a - vlevo model s jednou přidanou vrstvou; vpravo model se dvěma přidanými vrstvami

6 Návrh a implementace architektury sítě ENet

Třetí architektura implementovaná v rámci praktické části je ENet popsána v kapitole 2.2.8. Díky krátkým inferenčním časům lze síť použít pro kvalitní otestování nových konceptů pro zlepšení nebo např. při trénování na míru šitých modelů pro zvláštní aplikace.

6.1 Implementace modelu ENet a jeho trénování

Modely ENet byly trénovány se stejnými parametry jako modely UNet. Výjimkou byla změna trénovacího kroku na hodnotu $1 \cdot 10^{-3}$. S trénovacím krokem $1 \cdot 10^{-5}$ trénování došlo ke konvergenci sítě k lokálnímu minimu (srovnání průběhu kritériálních funkcí na obr 6.1).

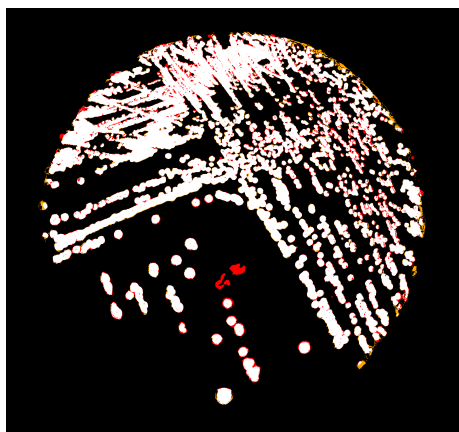


Obr. 6.1: Průběhy kritériálních funkcí modelů ENet s různými učitými kroky - vlevo $1 \cdot 10^{-5}$; vpravo $1 \cdot 10^{-3}$

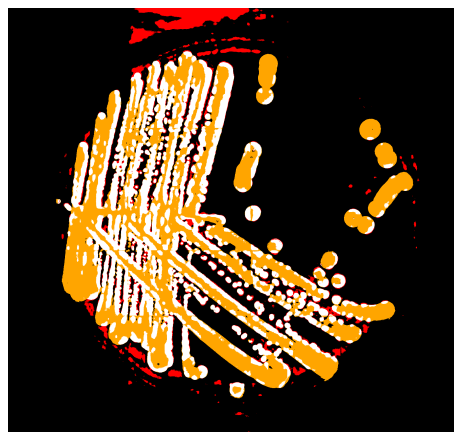
Model se standardní architekturou dosahoval výsledků (levý sloupec tabulky 6.1) srovnatelných s architekturou UNet o 4 vrstvách a 32 kanálech, ovšem s více než dvojnásobně nižším průměrným inferenčním časem. Výhodou modelu je rovněž nízký trénovací čas, který činil 1 hodinu 33 minut. Model dobře segmentoval kolonie na krevních agarech (6.2a) a alespoň částečně dokázal segmentovat i oblasti na světlých agarech (6.2b). Nízký inferenční čas dává prostor k rozšíření modelu za účelem poskytnutí kvalitnějších výsledků.

6.2 Zvýšení počtu filtrů

Pro zvýšení přesnosti architektury ENet byl natrénován model s dvojnásobným počtem filtrů. Výsledky jsou v tabulce v levé části tabulky 6.1. Navýšení počtu filtrů



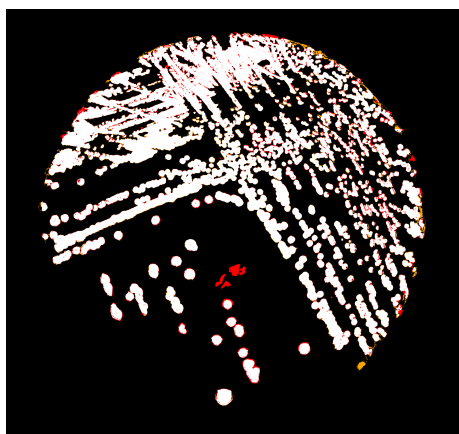
(a)



(b)

Obr. 6.2: Odezva standardního modelu - vlevo odezva modelu na obr. 3.4a; vpravo odezva modelu na obr. 3.7a

přineslo zvýšení pozitivní prediktivity za cenu snížení sensitivity. Absolutní zvýšení jak průměru tak mediánu pozitivní prediktivity bylo vyšší než snížení sensitivity, což vede ke zvýšení průměru a mediánu Dice koeficientu. Příklady výsledků modelu jsou na obrázcích 6.3. Zejména na obr. 6.3b lze pozorovat snížení falešně negativních vzorků a zvýšené falešně pozitivních oproti modelu se standardním počtem filtrů (obr. 6.2b) i přes to, že pozitivní prediktivita vzrostla. Tento jev může být způsoben vyšším poměrným zvýšením pravdivě pozitivních vzorků vůči falešně pozitivním vzorkům.



(a)



(b)

Obr. 6.3: Odezva modelu s dvojnásobným počtem filtrů - vlevo odezva modelu na obr. 3.4a; vpravo odezva modelu na obr. 3.7a

6.3 Zvýšení počtu vrstev

Jedním z klíčových faktorů krátkých inferenčních časů architektury ENet je velký blok enkodéru a malý blok dekodéru. Z toho vyplývá, že architektura není symetrická.

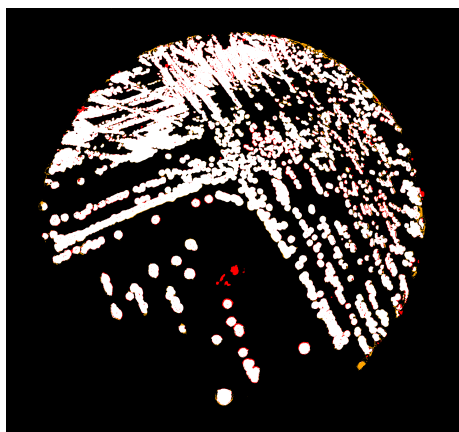
Vyšší počet filtrů přinesl vyšší přesnost segmentace modelu, ale neodstranil nedostatky segmentace souvislých oblastí kolonií na světlých agarech. Za účelem zlepšení odezvy sítě na obrazy se světlými agary byl natrénován model se zvýšeným počtem vrstev. Jelikož se nejedná o symetrickou architekturu, zvýšení počtu vrstev je dosaženo dvojitým opakováním sekce 2 v sekci 3 (viz pravá část tabulky 2.10).

Pouhé zvýšení počtu vrstev způsobilo zhoršení odezvy modelu. Všechny metriky s výjimkou mediánu pozitivní prediktivity dosahovaly nižších hodnot. Tento problém byl vyřešen zdvojnásobením počtu filtrů v síti. Model s dvojnásobným počtem filtrů dosahoval lepších výsledků, a to i na obrazech s bílými agary, díky čemuž výrazně vzrostl mimo mediánu i průměr Dice koeficientu. Nevýhodami tohoto modelu jsou vyšší inferenční časy a nižší sensitivita.

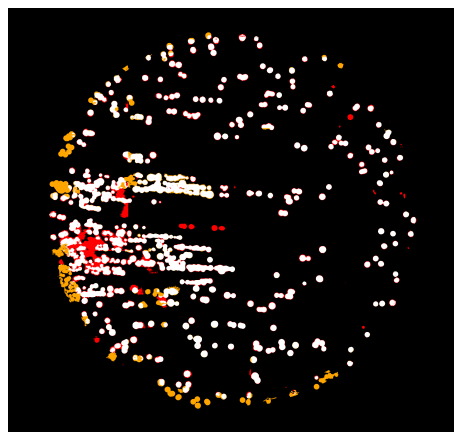
Natrénován byl i model se čtyřnásobným počtem filtrů, jehož sensitivita byla srovnatelná s modelem standardní architektury a ve zbylých metrikách, vyjma inferenčního času, jeho výsledky převyšovala. U modelu došlo k navýšení inferenčního času na 1.48 s, což je však stále pod limitem pro aplikační užití a model dosahuje vyšších průměrů a mediánů hodnot Dice koeficientu než např. UNet o 5 vrstvách a 32 kanálech s reziduálními bloky, jehož průměrný inferenční čas dosahoval 2.14 s. Na obr. 6.4 a 6.5 jsou uvedeny výstupy modelu ke srovnání s ostatními sítěmi. Lze pozorovat artefakty jako např. segmentaci aretační páčky či falešně pozitivní označení okraje misky na obr. 6.5b, která však z aplikačního hlediska nečiní problémy. Model dosáhl kvalitního výsledku (obr. 6.5a) na testovacím vzorku 3.6a, s nímž měly ostatní sítě problémy, pravděpodobně z důvodu nízkého kontrastu.

Tab. 6.1: Srovnání natrénovaných modelů architektury ENet

Metrika		Model				
		Stan- dardní architek- tura	Dvojná- sobný počet filtrů	Přidaný enko- dérový blok	Přidaný enko- dérový blok a dvoj- násobný počet filtrů	Přidaný enko- dérový blok a čtyř- násobný počet filtrů
Přesnost	Průměr	0.919	0.927	0.905	0.936	0.955
	Medián	0.971	0.970	0.967	0.976	0.979
	Maximum	1	1	1	1	1
	Minimum	0.002	0.007	0.002	0.003	0.002
Dice koeficient	Průměr	0.656	0.675	0.593	0.728	0.780
	Medián	0.794	0.835	0.780	0.860	0.896
	Maximum	0.992	0.994	0.991	0.995	0.995
	Minimum	0	0	0	0	0
Sensitivita	Průměr	0.759	0.731	0.712	0.734	0.756
	Medián	0.880	0.869	0.629	0.845	0.866
	Maximum	1	1	1	1	1
	Minimum	0	0	0	0	0
Pozitivní prediktivita	Průměr	0.659	0.717	0.629	0.772	0.838
	Medián	0.830	0.900	0.877	0.941	0.962
	Maximum	1	1	1	1	1
	Minimum	0	0	0	0	0
Inferenční čas [s]	Průměr	0.37	0.48	0.32	0.60	1.48
Paměťová náročnost [MB]	Maximum	418.332	427.066	438.730	447.738	466.172

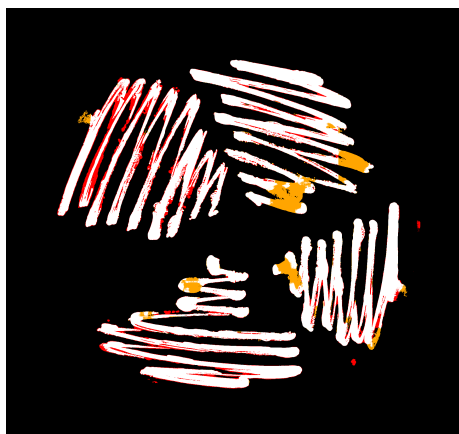


(a)



(b)

Obr. 6.4: Odezva modelu s přidanou vrstvou a čtyřnásobným počtem filtrů - vlevo odezva modelu na obr. 3.4a; vpravo odezva modelu na obr. 3.5a



(a)



(b)

Obr. 6.5: Odezva modelu s přidanou vrstvou a čtyřnásobným počtem filtrů - vlevo odezva modelu na obr. 3.6a; vpravo odezva modelu na obr. 3.7a

7 Předzpracování datasetu

Pro zlepšení výsledků jednotlivých modelů nemusí být laděny pouze parametry modelů, ale alternativním přístupem je předzpracování vzorků trénovacího, validačního a testovacího datasetu. Tato kapitola představí dva přístupy k předzpracování datasetu ve formě kruhové masky překrývající nedůležité části obrazu a ekvalizací histogramu vzorků.

Jako testovací model pro zkoumání přínosu výše zmíněných sledovaných technik byl použit již představený model ENet pro svoje kvalitní výsledky a krátké trénovací časy.

7.1 Kruhová maska

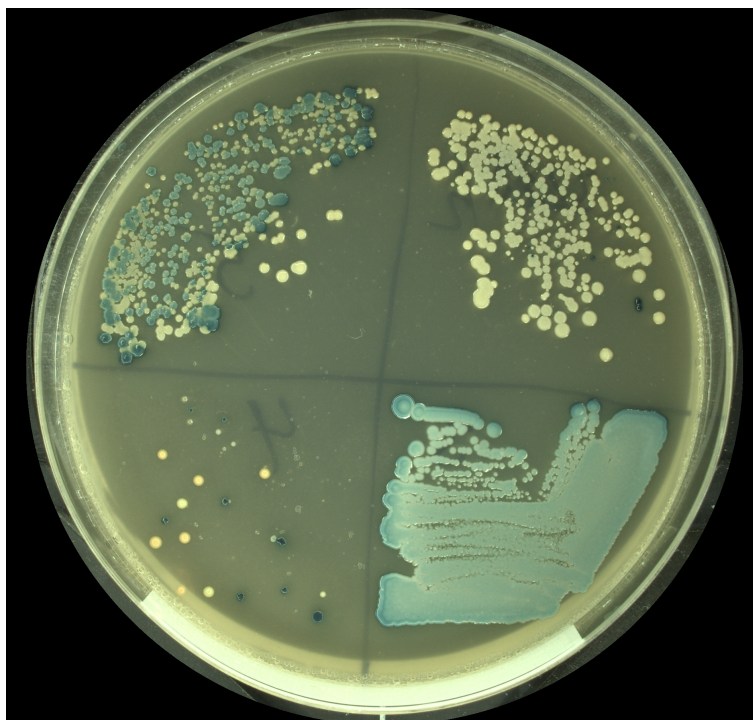
Zlepšení výsledků se očekává překrytím obrazů kruhovou maskou zakrývající části snímků, které neobsahují Petriho misku. Síti tak budou předány vzorky dat bez irelevantních informací. Příklad obrazu překrytého maskou je na obr. 7.1. Průměr kruhu odpovídá výšce obrazu (tedy 1800 px).

Kruhová maska přinesla výrazné zlepšení pozitivní prediktivity za cenu snížení sensitivity (tabulka 7.1). Průměr i medián Dice koeficientu vzrostl, z čehož vyplývá, že zvýšení pozitivní prediktivity převážilo snížení sensitivity. Tomu napovídá i fakt, že zvýšení mediánu pozitivní prediktivity je vyšší než snížení sensitivity. Změny průměrných hodnot jsou srovnatelné.

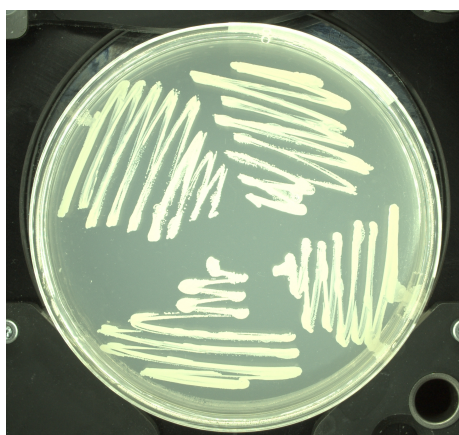
7.2 Ekvalizace histogramu

Obecně všechny natrénované modely dosahovaly horších výsledků pro obrazy se světlými agary. Tento fakt může být částečně způsoben kromě nižšího zastoupení těchto misek v trénovacím datasetu také menším kontrastem kolonií oproti pozadí agaru.

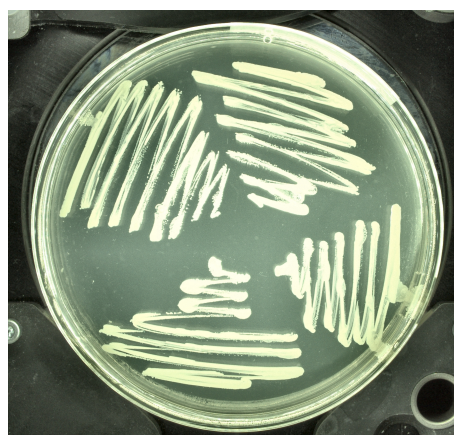
V rámci praktické části práce byly natrénovány vybrané modely na stejném datasetu, ale do předzpracování jednotlivých vzorků byla přidána operace ekvalizace histogramu. Ekvalizace histogramu v obraze zvyšuje kontrast transformací jasových hodnot, redistribucí jasových hodnot tak, aby byly v obraze zastoupeny rovnoměrně (příklad na obr. 7.2b). Nevýhodou této metody je zvýšení šumu v obraze; hluboké konvoluční neuronové sítě jsou však vůči šumu poměrně rezilientní. Ekvalizace vzorků datasetu rovněž způsobila zvýraznění označovacích prvků (nápisů fixou, nálepek apod.) ze spodních stran průhledných misek (jev je viditelný i v pravé horní části misky na obr. 7.2b).



Obr. 7.1: Snímek překrytý kruhovou maskou



(a)



(b)

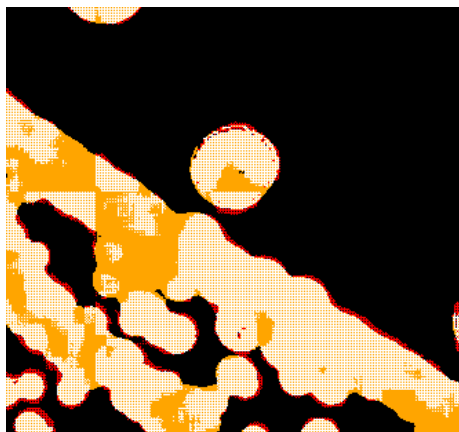
Obr. 7.2: Příklad ekvalizace - vlevo obraz bez ekvalizovaného histogramu; vpravo obraz s ekvalizovaným histogramem

Ekvalizace histogramů datasetu dle výsledků v tabulce 7.1 nepřineslo zlepšení. Ve všech sledovaných metrikách (s výjimkou průměrného inferenčního času) došlo ke zhoršení výsledků. Ekvalizované snímky do modelu při učení zanesly artefakt zrna falešně negativních výsledků (obrázky 7.3). Především tento vzniklý artefakt patrně přinesl výrazné zhoršení sledovaných metrik. Na obr. 7.4 je srovnání výstupů modelů trénovaných na standardním datasetu a datasetu s ekvalizovanými histogramy.

Tab. 7.1: Srovnání vybraných natrénovaných modelů s datasetem s kruhovými maskami

Metrika		Klasický dataset	Dataset s kruhovou maskou	Dataset s ekvivalizovaným histogramem
Přesnost	Průměr	0.919	0.920	0.909
	Medián	0.971	0.973	0.939
	Maximum	1	1	1
	Minimum	0.002	0	0.161
Dice koeficient	Průměr	0.656	0.668	0.612
	Medián	0.794	0.826	0.740
	Maximum	0.992	0.995	0.852
	Minimum	0	0	0
Sensitivita	Průměr	0.759	0.732	0.745
	Medián	0.880	0.855	0.874
	Maximum	1	1	1
	Minimum	0	0	0
Pozitivní prediktivita	Průměr	0.659	0.685	0.562
	Medián	0.830	0.887	0.699
	Maximum	1	1	0.766
	Minimum	0	0	0
Inferenční čas [s]	Průměr	0.37	0.36	0.29
Paměťová náročnost [MB]	Maximum	418.332	419.090	417.199

Lze pozorovat, že zvýšení kontrastu přineslo segmentaci větší oblasti původního snímku. Toto zlepšení však nedokáže kompenzovat zanesený artefakt zrna.



(a)



(b)

Obr. 7.3: Artefakt zrna na obrazech s ekvalizovaným histogramem - vlevo přiblížený artefakt zrna na obrazech s ekvalizovaným histogramem; vpravo výsledek modelu ENet trénovaném na datasetu s ekvalizovanými histogramy



(a)



(b)

Obr. 7.4: Porovnání výsledků s ekvalizovanými histogramy - vlevo výsledek modelu ENet trénovaném na klasickém datasetu; vpravo výsledek modelu ENet trénovaném na datasetu s ekvalizovanými histogramy

8 Volba modelu pro aplikační použití

Modely architektury UNet dosahovaly nejlepších výsledků s 5 vrstvami a 32 a 64 kanály v první konvoluční vrstvě. Model se 64 kanály však trpěl příliš vysokým inferenčním časem a jeho výsledky byly srovnatelné s modelem s 32 kanály. Přítomnost reziduálních vrstev zvýšila průměr i medián Dice koeficientu. V případě použití architektury UNet v aplikačním prostředí by tak připadal v úvahu model s 5 vrstvami, 32 kanály v první konvoluční vrstvě a reziduálními vrstvami.

Průměrné inferenční časy všech modelů architektury UNet++ včetně těch s nejnižšími počty kanálů a vrstev ve všech konfiguracích přesahovaly stanovenou mez. Ani velmi rozsáhlé modely rovněž nedosáhly výsledků převyšující architekturu UNet a případné prořezání modelů ke snížení inferenčního času by bylo zbytečné. Žádný z modelů UNet++ tedy není vhodný pro použití v aplikačním prostředí.

Modely ENet dosahovaly dobrých výsledků a především velmi krátkých inferenčních časů. I za cenu vyššího inferenčního času je pro aplikační použití nejvíce vhodný model s přidaným blokem enkodéru a čtyřnásobným počtem filtrů. Zmíněný model byl znovu natrénován na datasetu s předzpracováním pomocí kruhových masek; ekvalizace histogramů použita nebyla. Výsledky finálního modelu, jenž bude použit v produkci, jsou uvedeny v tabulce 8.1.

Výsledný model byl integrován do aplikace pro ovládání přístroje MBT Pathfinder. Aplikace je napsaná v programovacím jazyce C# a využívá platformy .NET Framework. Model byl integrován konverzí natrénovaného modelu do standardního formátu *.onnx*, který je při inferenci načítán knihovnou ONNX Runtime pomocí dostupného C# API.

Tab. 8.1: Výsledky modelu vybraného pro produkční prostředí

Metrika		Výsledný model
Přesnost	Průměr	0.956
	Medián	0.983
	Maximum	1
	Minimum	0
Dice koeficient	Průměr	0.787
	Medián	0.900
	Maximum	0.995
	Minimum	0
Sensitivita	Průměr	0.765
	Medián	0.876
	Maximum	1
	Minimum	0
Pozitivní prediktivita	Průměr	0.831
	Medián	0.964
	Maximum	1
	Minimum	0
Inferenční čas [s]	Průměr	1.71
Paměťová náročnost [MB]	Maximum	461.117

Závěr

V rámci této diplomové práce byla provedena rešerše v oblasti mikrobiálních kolonií, jejich kultivace a analýzy. Čtenář byl dále seznámen s problematikou segmentace obrazu. Byly popsány tradiční techniky segmentace obrazu a probrány byly i základy segmentace obrazu za použití strojového učení. Postupně byly představeny pojmy jako perceptron, neuronové sítě, konvoluční neuronové sítě a jejich vrstvy. Závěrem této kapitoly byly ukázány i běžně používané modely neuronových sítí z oblasti segmentace obrazu. Následná kapitola představila hmotnostní spektrometrii a přístroj MBT Pathfinder a uvedla tak čtenáře do kontextu praktické části práce. Představen byl i výchozí trénovací dataset použitý v praktické části práce.

Praktická část se týkala návrhu a implementace několika modelů třech různých architektur segmentačních neuronových sítí v programovacím jazyce *Python* a knihovně *Tensorflow*. Použity byly architektury UNet, UNet++ a ENet. U každé z architektur byly zkoumány různé parametry, především počet konvolučních vrstev a filtrů v nich. Nejlepších výsledků za stanovených podmínek dosahoval model architektury ENet se čtyřnásobným počtem filtrů rozšířený o další konvoluční blok enkodéru.

V závěru práce byly popsány dvě formy předzpracování datasetu - překrytí vzorků datasetu kruhovou maskou a ekvalizace histogramů. Vybraný model ENet byl natrénován znovu na datasetu předzpracovaného kruhovou maskou. Tento model byl integrován do produkčního prostředí, kde dochází k jeho testování laboratorními technikami.

Literatura

- [1] Adámek, J.: *Zpracování obrazu Petriho misek*. Diplomová práce, Vysoké učení technické v Brně. Fakulta informačních technologií. Ústav počítačové grafiky a multimédií, Brno, 2015.
URL <http://hdl.handle.net/11012/64082>
- [2] Altuntas, V.; Altuntas, S.; Gok, M.: Automatic colony segmentation on agar surface by image processing. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 2018, ISSN 0022-4456.
URL https://www.researchgate.net/publication/333209619_Automatic_colony_segmentation_on_agar_surface_by_image_processing
- [3] Aryal, S.: MacConkey Agar- Composition, Principle, Uses, Preparation and Colony Morphology. 2018.
URL <https://microbiologyinfo.com/macconkey-agar-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/>
- [4] Badrinarayanan, V.; Kendall, A.; Cipolla, R.: SegNet: Deep Convolutional Encoder-Decoder Architecture for Image Segmentation. *CoRR*, 2015, doi: 10.1109/TPAMI.2016.2644615, 1511.00561.
URL <http://arxiv.org/abs/1511.00561>
- [5] Chen, L.-C.; Papandreou, G.; Kokkinos, I.; aj.: DeepLab: Semantic Image Segmentation with Deep Convolutional Nets, Atrous Convolution, and Fully Connected CRFs. 2017, doi:10.1109/TPAMI.2017.2699184, 1606.00915.
URL <https://arxiv.org/abs/1606.00915>
- [6] Chen, L.-C.; Yukun Zhu, G. R., Software Engineers: Semantic Image Segmentation with DeepLab in TensorFlow. 2018.
URL <https://ai.googleblog.com/2018/03/semantic-image-segmentation-with.html>
- [7] Chen, W.-B.; Zhang, C.: An automated bacterial colony counting and classification system. 2009: s. 349–368, ISSN 1387-3326, doi:10.1007/s10796-009-9149-0.
- [8] DICE, L.: MEASURES OF THE AMOUNT OF ECOLOGIC ASSOCIATION BETWEEN SPECIES. *ECOLOGY*, 1945: s. 297–302, ISSN 0012-9658, doi: {10.2307/1932409}.
- [9] Gandhi, R.: R-CNN, Fast R-CNN, Faster R-CNN, YOLO — Object Detection Algorithms.

- URL <https://towardsdatascience.com/r-cnn-fast-r-cnn-faster-r-cnn-yolo-object-detection-algorithms-36d53571365e>
- [10] Ghosh, S.; Das, N.; Das, I.; aj.: Understanding Deep Learning Techniques for Image Segmentation. 2019, doi:10.1145/3329784, 1907.06119.
URL <https://arxiv.org/abs/1907.06119>
- [11] Grossfeld, B.: Deep learning vs machine learning: a simple way to understand the difference.
URL <https://www.zendesk.com/blog/machine-learning-and-deep-learning/>
- [12] He, K.; Gkioxari, G.; Dollár, P.; aj.: Mask R-CNN. 2018, doi:10.1109/ICCV.2017.322, 1703.06870.
URL <https://arxiv.org/abs/1703.06870>
- [13] He, K.; Zhang, X.; Ren, S.; aj.: Deep Residual Learning for Image Recognition. 2016: s. 770–778, doi:10.1109/CVPR.2016.90.
- [14] HOLČÍK Jiří, K. M.: *Matematická biologie: e-learningová učebnice [online] (Matematický model a aktivní dynamika neuronu)*. Brno: Masarykova univerzita, 2015, ISBN ISBN 978-80-210-8095-9.
URL <https://portal.matematickabiologie.cz/index.php?pg=analiza-a-hodnoceni-biologickych-dat--umela-intelligence--neuronove-site-jednotlivy-neuron--jednotlivy-neuron--matematicky-model-a-aktivni-dynamika-neuronu>
- [15] Ioffe, S.; Szegedy, C.: Batch Normalization: Accelerating Deep Network Training by Reducing Internal Covariate Shift. 2015, 1502.03167.
- [16] Jan, J.: *Medical Image Processing Reconstruction and Analysis: Concepts and Methods*. Signal Processing and Communications, CRC Press, 2019, ISBN 9781138310285.
URL <https://books.google.de/books?id=V99NwwEACAAJ>
- [17] Karimov, A.; Razumov, A.; Manbatchurina, R.; aj.: Comparison of UNet, ENet, and BoxENet for Segmentation of Mast Cells in Scans of Histological Slices. *2019 International Multi-Conference on Engineering, Computer and Information Sciences (SIBIRCON)*, Oct 2019, doi:10.1109/sibircon48586.2019.8958121.
URL <http://dx.doi.org/10.1109/SIBIRCON48586.2019.8958121>

- [18] Khan, A. u. M.; Torelli, A.; Wolf, I.; aj.: AutoCellSeg: robust automatic colony forming unit (CFU)/cell analysis using adaptive image segmentation and easy-to-use post-editing techniques. *Scientific Reports*, May 2018: str. 7302, ISSN 2045-2322, doi:10.1038/s41598-018-24916-9.
URL <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24916-9>
- [19] Paszke, A.; Chaurasia, A.; Kim, S.; aj.: ENet: A Deep Neural Network Architecture for Real-Time Semantic Segmentation. 06 2016.
- [20] Plocková, M.: Laboratoř oboru – Mikrobiologie; Identifikace neznámé bakterie.
URL https://e-learning.vscht.cz/pluginfile.php/9116/mod_resource/content/1/VP_lab_navody_21_e-learning_CZ_13.pdf
- [21] Ronneberger, O.; Fischer, P.; Brox, T.: U-Net: Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation. 2015: s. 234–241, doi:10.1007/978-3-319-24574-4_28.
- [22] Smíšek, J.: Kultivace bakterií na pevných půdách. 2008.
URL http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/bak/vseob/P1v/kultivace_vs.pdf
- [23] Tsang, S.-H.: Review: DeepLabv1 & DeepLabv2 — Atrous Convolution (Semantic Segmentation). 2018.
URL <https://towardsdatascience.com/review-deeplabv1-deeplabv2-atrous-convolution-semantic-segmentation-b51c5fbde92d>
- [24] Uher, V.: *Trénovatelné metody pro automatické zpracování biomedicínských obrazů*. Disertační práce, Vysoké učení technické v Brně. Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií. Ústav telekomunikací, Brno, 2018.
URL <http://hdl.handle.net/11012/137277>
- [25] Vision, S.; Lab, L.: Convolutional Neural Networks (CNNs / ConvNets).
URL <https://cs231n.github.io/convolutional-networks/>
- [26] Zhao, H.; Shi, J.; Qi, X.; aj.: Pyramid Scene Parsing Network. 2017: s. 6230–6239, ISSN 1063-6919, doi:10.1109/CVPR.2017.660, 30th IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), Honolulu, HI, JUL 21-26, 2017.
- [27] Zhou, Z.; Siddiquee, M. M. R.; Tajbakhsh, N.; aj.: UNet plus plus : A Nested U-Net Architecture for Medical Image Segmentation. 2018: s. 3–11, ISSN 0302-9743, doi:10.1007/978-3-030-00889-5_1, 4th International Workshop on Deep Learning in Medical Image Analysis (DLMIA) / 8th International Workshop

on Multimodal Learning for Clinical Decision Support (ML-CDS), Granada,
SPAIN, SEP 20, 2018.

Seznam symbolů, veličin a zkratek

API Analytical profile index

ASPP Atrous spatial pyramid pooling - pyramidové sdružování dilatovanou konvolucí

CRF Conditional random fields - podmíněné náhodné pole

ELISA Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

MALDI Matrix-assisted laser desorption/ionization - laserová desorpce za účasti matrice

MALDI-TOF Matrix-assisted laser desorption/ionization - Time of Flight - laserová desorpce za účasti matrice v kombinaci s detektorem doby letu

PCA Principle component analysis - analýza hlavních komponent

R-CNN Region-based convolutional neural network - regionová konvoluční neuronová síť

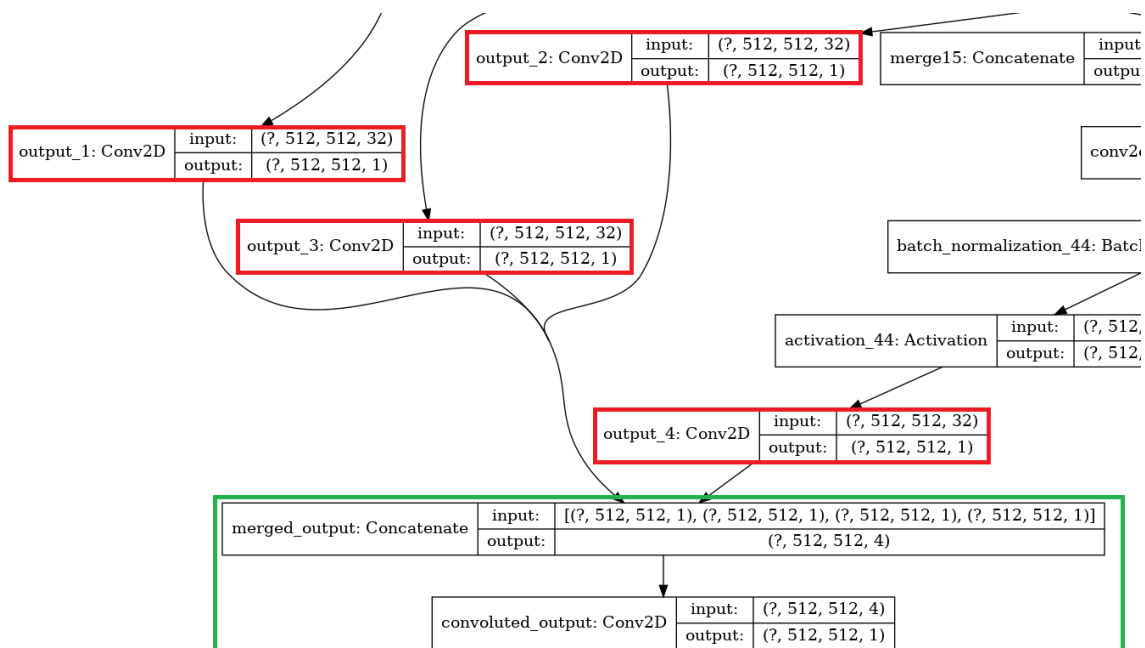
TOF Time of Flight - doba letu

Seznam příloh

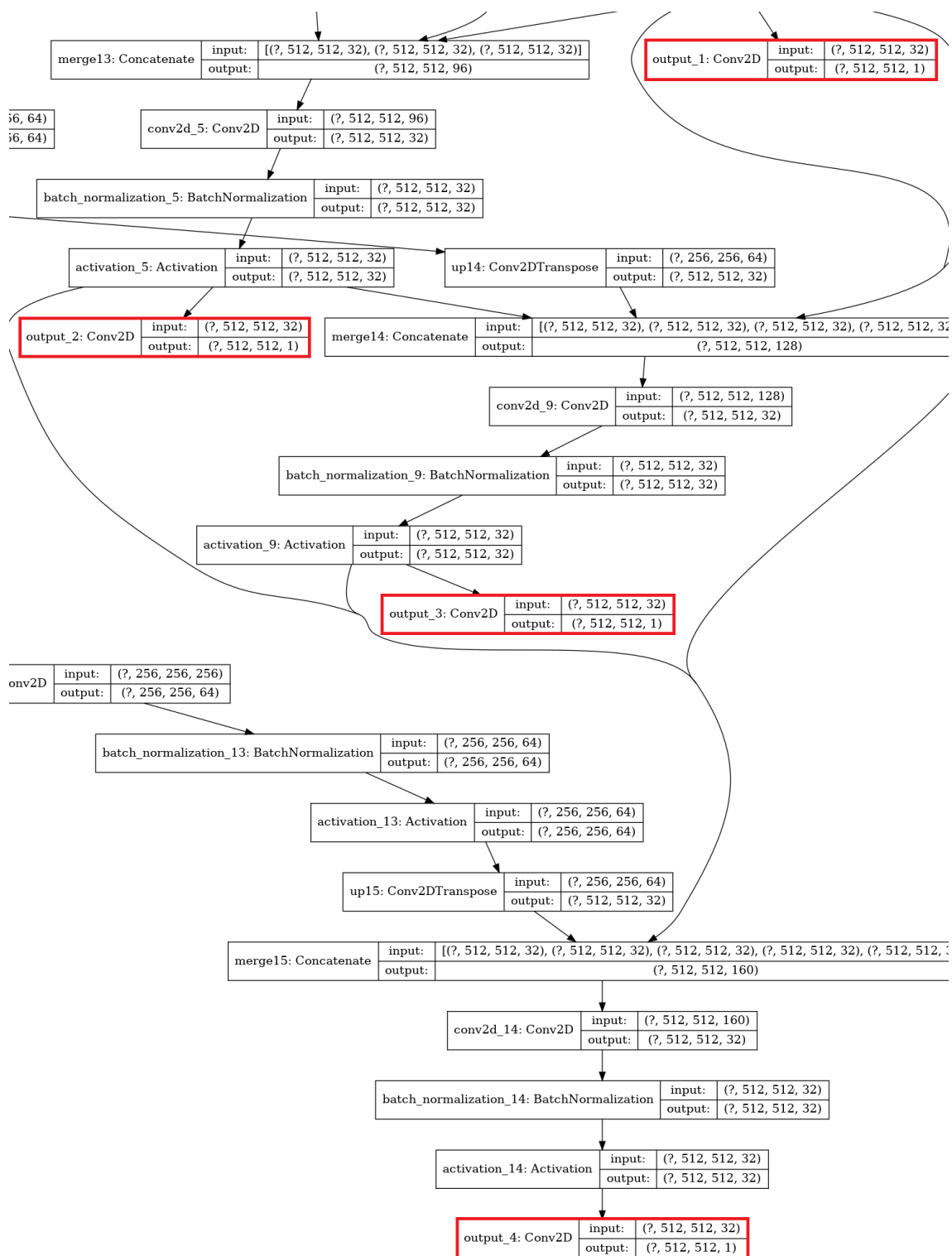
A Diagramy modelů

68

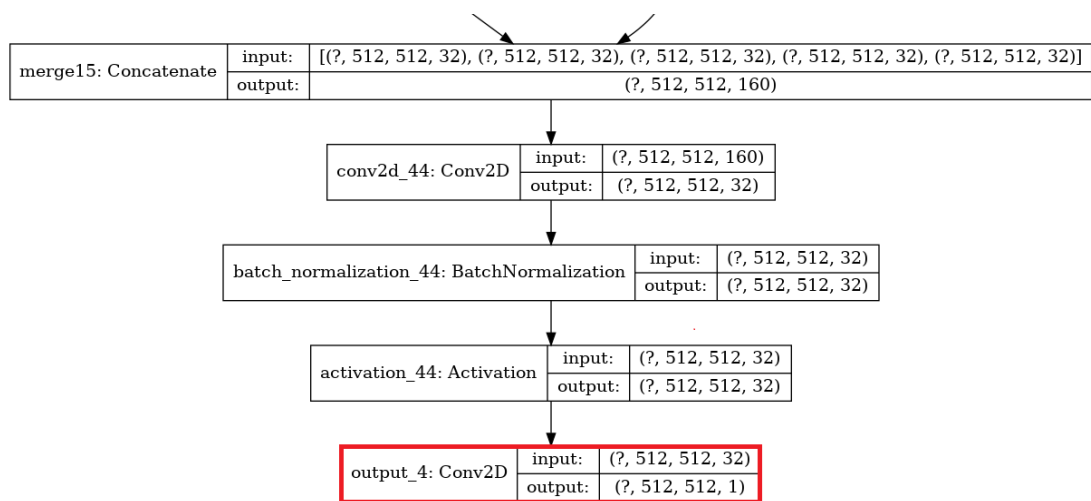
A Diagramy modelů



Obr. A.1: UNet++ model s hlubokou supervizí a konkatencí (červeně značeny výstupy nezávislých bloků, zeleně celkový výstup sítě)



Obr. A.2: UNet++ model s hlubokou supervizí bez konkatenace (červeně značeny výstupy nezávislých bloků)



Obr. A.3: UNet++ model bez hluboké supervize (červeně značen výstup nejhlubšího nezávislého bloku)